

体外冲击波联合自体细胞生长因子治疗骨不连的实验研究

张中禹¹ 谭勇海¹ 金鑫¹ 鞠昌军¹ 严伟¹ 姜红江^{1△}

[摘要] **目的:**探讨体外冲击波(ESW)联合自体细胞生长因子治疗兔桡骨骨不连的效果及作用原理。**方法:**选用健康成年雄性新西兰大耳白兔 40 只,无菌条件下制作兔双侧桡骨骨不连模型,最后造模成功 36 只,利用随机数字表将实验动物分成 4 组,每组 9 只。其中 A 组为对照组,B 组为单纯体外冲击波治疗组,C 组为单纯自体细胞生长因子组,D 组为体外冲击波联合自体细胞生长因子组。在无菌条件下将经兔耳缘静脉采血转移到 15 mL 的无菌离心管中,在 200g 的条件下离心 20 min。小心将中上层移出并不带任何红细胞,放入 15 mL 无菌的离心管中。采用 ELISA 法检测样本中各种生长因子的浓度。造模 12 周后对实验动物行体外冲击波及自体细胞生长因子注射治疗。分别在治疗前及治疗后第 4,8,12 及 16 周行 X 线检查,处死实验动物取活组织进行大体观察、骨痂钙水平测定、骨痂成骨细胞计数并进行统计学分析。**结果:**检测结果显示主要生长因子为 VEGF 和 TGF- β 含量分别达到 (528.87 ± 38.51) pg/mL 和 (162.73 ± 21.08) pg/mL,为正常全血中含量的 5 倍左右。治疗后 16 周发现 A 组未愈合;B 组骨不连部位开始愈合,但较 C 和 D 组薄,有少量骨痂,抗外力较弱;C 组基本达到愈合,但较 D 组稍薄;D 组达到骨性愈合,表现为骨不连部位平整光滑,颜色亮,质地硬。X 线片观察治疗后 16 周发现,A 组骨折间隙无明显改变;B 组骨折间隙有改变,但较 C 和 D 两组较差。C 和 D 两组骨不连间隙变化明显,其中 D 组变化较 C 组更为明显。A 组与 B,C,D 组骨不连间隙 4,8,12 及 16 周差异有统计学意义 ($P < 0.05$),骨痂生成量 4,8,12 及 16 周差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。B,C 及 D 组骨钙水平 4,8,12 及 16 周差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),骨痂成骨细胞计数 4,8,12 及 16 周差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论:**体外冲击波联合自体细胞生长因子对骨不连的治疗效果优于单纯体外冲击波和单纯自体细胞生长因子治疗,体外冲击波联合自体细胞生长因子为临床治疗骨不连提供了一种良好协同方法。

[关键词] 自体细胞生长因子;骨不连;体外冲击波;桡骨;兔

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2018)08-0005-06

Experimental Study on the Treatment of Bone Nonunion with Extracorporeal Shock Wave Combined with Autologous Growth Factor

ZHANG Zhongyu¹ TAN Yonghai¹ JIN Xin¹
JU Changjun¹ YAN Wei¹ JIANG Hongjiang^{1△}

¹Wendeng Osteopath & Rehabilitation Hospital of Shandong Province, Weihai 264400, Shandong China.

Abstract Objective: to investigate the effect and principle of extracorporeal shock wave (ESW) combined with autologous cell growth factor in the treatment of radial nonunion in rabbits. **Methods:** All 40 adult male New Zealand white rabbits were selected to make double radial nonunion model under aseptic condition, and 36 were successfully made. The experimental animals were divided into 4 groups (9 in each group) by random number table. Group A, B, C, D was the control group, single extracorporeal shock wave treatment group, simple autologous cytokine group, combined extracorporeal shock wave cytokine group respectively. Under aseptic condition, blood was transferred from rabbit ear margin vein to 15 mL sterile centrifugation tube for 20 minutes under 200g. Carefully remove the middle and upper layers without any red blood cells and place them in 15 mL sterile centrifuge tubes. The concentration of various growth factors in the samples

was determined by ELISA. The experimental animals were treated with in vitro shock and autologous cytokine injection after 12 weeks. X-Ray examination of 4,8,12 and 16 weeks before and after treatment was carried out. The experimental

基金项目:威海市科技发展计划(2017GNS13)

¹ 山东省文登整骨医院(山东 威海,264400)

[△]通信作者 E-mail: boneman@163.com

animals were sacrificed to take biopsy for gross observation, osteocalcin calcium level determination, bone callus osteoblast cell count and statistical analysis. **Results:** The results showed that the main growth factors were VEGF and TGF- β , and their contents reached (528.87 ± 38.51) pg/mL and (162.73 ± 21.08) pg/mL, which were about 5 times of the normal whole blood content. At the 16th week after treatment, group A did not heal, and group B bone nonunion began to heal, but was thinner than group C and D. There was a small amount of bone spasm and weak external resistance. Group C basically healed, but was slightly thinner than group D. In group D, bony union was achieved. The nonunion sites were smooth, bright and hard. X-ray observation showed that there was no significant change in fracture space in group A at 16th weeks after treatment. There was a change in fracture space in group B, but it was worse in group C and D. The changes of the gaps between the two groups were significant in the C and D groups, and the change in the D group was more obvious than that in the C group. There was significant difference between group A and group B, C, D in the non-union gaps at 4th, 8th, 12th and 16th weeks ($P < 0.05$), and there were significant differences between days 4, 8, 12 and 16 in osteophyte production ($P < 0.05$). There were significant differences in the levels of bone calcium in groups B, C, and D at 4th, 8th, 12th and 16th weeks ($P < 0.05$), and there were significant differences between days 4, 8, 12 and 16 in osteoclast osteoblast counts ($P < 0.05$). **Conclusion:** The effect of extracorporeal shock wave combined with autologous cell growth factor on bone nonunion is superior to that of simple shock wave and autologous cell growth factor alone. Extracorporeal shock waves combined with autologous cell growth factor provide a good synergistic method for clinical treatment of nonunion.

Keywords: autologous cell growth factor; bone nonunion; extracorporeal shock wave; fibula; rabbit

骨不连是临床上常见病,也是骨科、康复科治疗的难题之一。目前,我国每年因各种原因导致的骨不连患者超过 1 000 万,给社会和家庭造成了极大的痛苦和经济损失。体外冲击波(Extracorporeal Shock Wave, ESW)是通过空气或气体传导的一种机械性脉冲压强波,可以对骨折后的多种并发症有良好的治疗效果,其治疗骨不连的疗效得到了临床的证实^[1]。研究表明^[2-4],细胞生长因子与细胞的生长、骨的修复密切相关。本文通过将体外冲击波和自体细胞生长因子的作用结合对兔桡骨骨不连进行治疗,取得了满意效果,为临床治疗骨不连提供了一种良好协同方法。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选用健康成年雄性新西兰大耳白兔 40 只,体质量 (3.0 ± 0.2) kg,由山东省文登整骨医院骨伤研究所提供,动物许可证号为 SCXK-(鲁)2012-0006,标准条件下饲养。实验过程中对动物的处置符合 2006 年科技部发布的《关于善待实验动物的指导性意见》^[5]。

1.2 主要试剂及仪器材料

10%水合氯醛、4%多聚甲醛溶液、入 10% EDTA 溶液、4:1 的硝酸高氯酸溶液、冷冻离心机、-80 °C 冰箱、-20 °C 冰箱、微量移液器、超净工作台、数码成像 X 线机(DR);显微镜 OLYMPUS BX51、原子吸收分光光度计、15 mL 无菌离心管、一次性无菌枪头、青霉素钠、强力霉素等。

1.3 方法

1.3.1 造模方法 实验于 2015 年 12 月至 2017 年 6 月在山东省文登整骨医院国家中医药管理局组织工程(骨伤)三级实验室完成。按 4 mL/kg 的剂量用 10%

水合氯醛耳缘静脉麻醉大耳白兔。麻醉成功后,将兔仰卧位于无菌台上,四肢固定在固定架上,术区常规备皮、消毒、铺巾,制作大耳白兔双侧桡骨骨不连模型,即截除 1.5 cm 左右双侧桡骨中段(包括骨膜),截除后在断端处填塞明胶海绵,缝合皮肤切口。肌肉注射 3.0×10^5 U 青霉素,保暖处理直至麻醉苏醒后放回笼中。术后分笼常规饲养,每笼 2 只,自由活动,连续 3 d 肌肉注射 3.0×10^5 U 青霉素,1 次/d。12 周后对大耳白兔行 X 线片检查,如出现骨折端硬化,断端间隙存在,髓腔封闭,则为骨不连模型建立成功,纳入研究。

1.3.2 分组方法 按照上述造模方法,最后造模成功 36 只,随机将实验动物分成 4 组,每组 9 只,共 18 条桡骨,A 组为对照组、B 组为单纯体外冲击波治疗组、C 组为单纯自体细胞生长因子组、D 组为体外冲击波联合自体细胞生长因子组。四组实验动物采用相同的居住和喂养环境。

1.3.3 自体细胞生长因子的制备及检测 在无菌条件下将兔耳缘静脉采血转移到 15 mL 的无菌离心管中,在 200g 的条件下离心 20 min。全血分为三层,中上层是富血小板血浆,下层是红细胞。小心将中上层移出并不带任何红细胞,放入 15 mL 无菌的离心管中。分装并粘上抗冷冻标签,将 PRP 放入 -20 °C 的冰箱中,长时间储藏要放到 -80 °C 冰箱中。采用 ELISA 法检测样本中各种细胞生长因子的浓度,各操作过程均按试剂说明书严格执行。

1.3.4 体外冲击波治疗 按 4 mL/kg 的剂量用 10% 水合氯醛耳缘静脉麻醉大耳白兔。麻醉成功后将大耳白兔固定在自制手术台上,透视定位后,调整冲击波焦点,分别对准骨缺损远、近端边缘相应部位。冲击波刺

激参数:电压 2 kV,频率 75 次/min,焦点聚焦范围为 1.5 cm²。在治疗过程中,定时 X 线透视,以保证焦点准确定位。冲击波治疗时间约 10 min,每周进行 1 次治疗,共进行冲击波治疗 3 次。

1.3.5 自体细胞生长因子治疗 注射前从-80℃冰箱中取出冷冻自体细胞生长因子,在 37℃水浴锅中融化,时间不超过 5 min。在 1 700g 的条件下离心 6 min,此时可见分为两层,上层为自体细胞生长因子,下层为细胞碎片。取上清液,向其中加入 10 mg/mL 的强力霉素,抽入 0.5 mL 的无菌针管里备用。麻醉成功后将大耳白兔固定在自制手术台上,常规术区皮肤消毒,铺无菌巾。先使用一次性麻醉针找到下肢骨骨缺损大体部位,在 C 臂机透视下找到确切的骨缺损部位,将自体细胞生长因子于骨缺损两端分 4~5 个不同位置,缓缓注入。每周进行 1 次治疗,共进行自体细胞生长因子治疗 3 次。

1.3.6 体外冲击波联合自体细胞生长因子治疗 对大耳白兔先按照自体细胞生长因子治疗组方法治疗,30 min 后再按体外冲击波治疗组方法进行治疗。

1.3.7 X 线片检查 于治疗前及治疗后 4,8,12 及 16 周行 X 线片检查,采用多点测量桡骨骨不连区的间隙的距离变化情况,并在计算机上精确测量治疗前后桡骨折断间隙的平均宽度,记录所获得的平均值。骨痂生成量采用 Perkins 公式计算。

1.3.8 光镜检查 采用空气栓塞法分别于治疗前处死 1 只动物,治疗后 4,8,12 及 16 周每组处死实验动物 2 只,取出桡骨骨不连部位(长 2.0 cm 左右)组织。脱钙

4 周,每周更换脱钙液 1 次,待标本变软后用流动的清水进行冲洗、冲洗后置入 4%多聚甲醛溶液固定 48 h,石蜡处理,5 μm 连续切片,苏木精-伊红染色,在光学显微镜下进行组织学观察,观察骨痂中成骨细胞计数。

1.3.9 骨痂钙元素水平测定 取桡骨骨不连区部分新生骨痂,用滤纸吸干后置入 60℃烤箱中烘干 48 h,称重后放入 4:1 的硝酸高氯酸溶液中 24 h。取出桡骨置于电热板加热消化至液体,用去离子水稀释定容,定容后使用原子吸收分光光度计测定骨痂钙元素水平。

1.3.10 统计学方法 数据应用 SPSS19.0 统计学软件进行统计学分析,数据以表示 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 自体细胞生长因子含量检测

检测结果显示裂解液中主要细胞生长因子为 VEGF 和 TGF-β 含量分别达到 (528.87 ± 38.51) pg/mL 和 (162.73 ± 21.08) pg/mL,为正常全血中含量的 5 倍左右。

2.2 桡骨的大体观察

治疗后 16 周发现 A 组未愈合,表现为纤维状连接,骨不连部位未见明显的骨痂生成。B 组骨不连部位开始愈合,表现为骨不连部位骨皮质较完整,但较 C、D 组薄,有少量骨痂,抗外力较弱。C 组基本达到愈合,表现为骨不连部位骨皮质完整,皮质有大量骨点,但较 D 组稍薄,骨不连部位有骨痂,抗外力较 D 组稍弱。D 组达到骨性愈合,表现为骨不连部位平整光滑,颜色亮,质地硬,较难掰断(见图 1)。

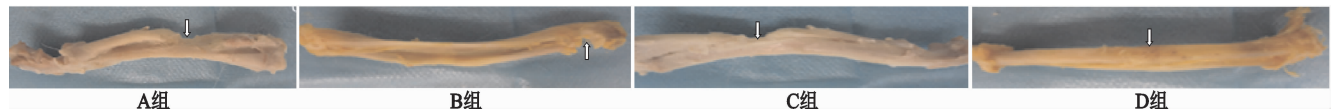


图 1 治疗后 16 周处死兔的大体标本

2.3 桡骨的 X 线观察

治疗后 12 周发现 A 组骨折间隙无明显改变,骨折断端仍为硬化骨,骨髓腔封闭,呈现骨不连影像学改变,B 组骨折间隙未有改变,C 有少量骨痂,但较 D 组差,D 组骨折间隙明显变小和骨痂量较多(见图 2)。治疗后 16 周发现 A 组骨折间隙无明显改变,骨折断

端仍为硬化骨,骨髓腔封闭,呈现骨不连影像学改变。B 组骨折间隙有改变,有少量骨痂,但较 C 和 D 两组较差。C 和 D 两组骨不连间隙变化明显,有大量骨痂,其中 D 组骨折间隙变化和骨痂量较 C 组更为明显(见图 3 及表 1-2)。

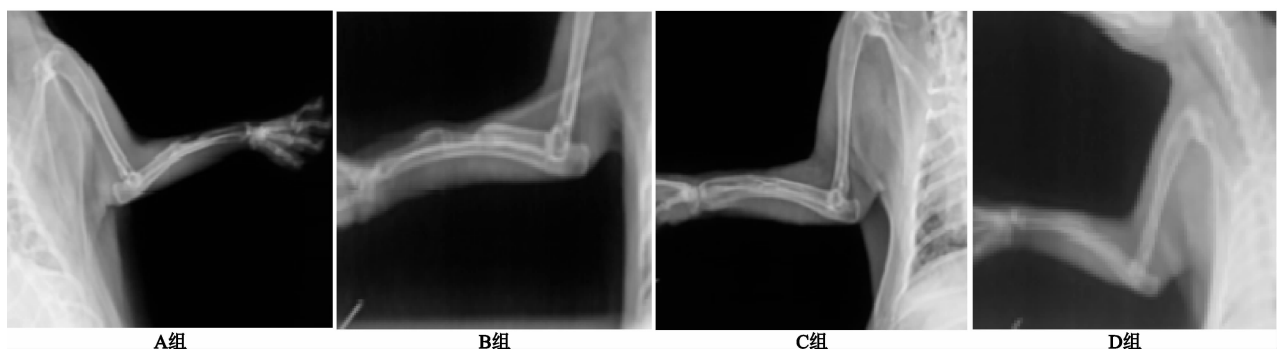


图 2 治疗后 12 周 X 线观察

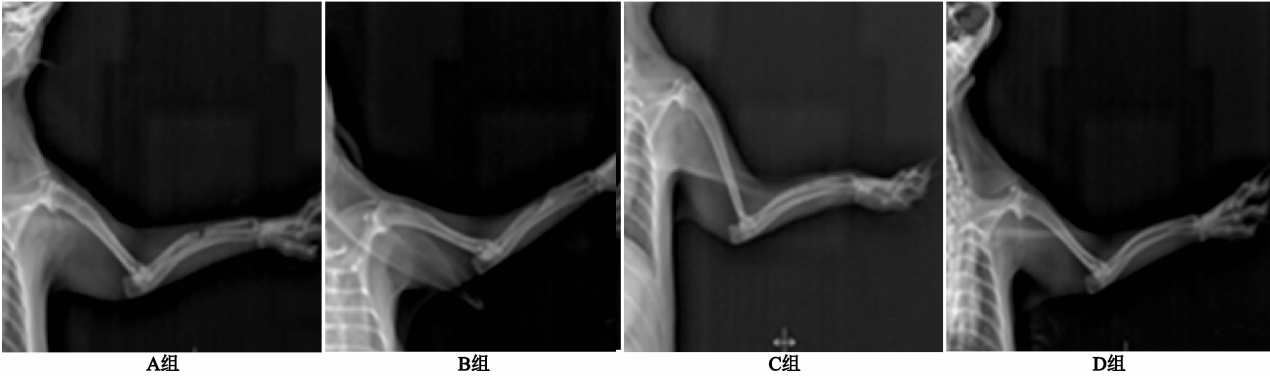


图3 治疗后16周X线观察

表1 各组治疗前后X线检查骨折间隙变化(̄x±s)

组别	治疗前	治疗后4周	治疗后8周	治疗后12周	治疗后16周	t	P
对照组	4.89±0.87	4.85±0.68	4.87±0.87	4.86±0.82	4.89±0.86	0.146	0.361
单纯体外冲击波治疗组	4.79±0.94	4.85±0.76	5.12±0.33	5.26±0.39	5.42±0.27	8.750	<0.001
单纯自体细胞生长因子组	4.81±0.84	6.57±0.38	7.19±0.54	8.06±0.34	8.86±0.38	12.570	<0.001
体外冲击波联合自体细胞生长因子组	4.84±0.91	6.878±0.41	8.34±0.17	9.05±0.17	9.75±0.51	25.480	<0.001
F	43.21	54.14	101.76	276.57	482.85		
P	0.647	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		

表2 治疗后骨痂生成量(̄x±s)

组别	治疗前	治疗后4周	治疗后8周	治疗后12周	治疗后16周	t	P
对照组	6.57±0.34	6.65±0.31	6.59±0.27	6.61±0.29	6.51±0.26	0.647	0.517
单纯体外冲击波治疗组	6.55±0.32	6.94±0.38	17.48±0.37	27.89±0.31	30.15±0.32	13.314	<0.001
单纯自体细胞生长因子组	6.56±0.35	15.83±0.57	23.91±0.66	32.54±0.56	41.37±0.72	28.573	<0.001
体外冲击波联合自体细胞生长因子组	6.51±0.37	25.48±0.51	37.41±0.37	48.75±0.43	59.72±0.34	38.647	<0.001
F	167.58	362.14	578.21	732.48	1297.51		
P	0.473	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		

2.4 桡骨的光镜检查

治疗后4周光镜检查发现A,B及C三组无明显变化,D组形成软骨和骨性骨痂,骨小梁周围有成骨细胞且增粗;治疗后8周光镜检查发现A和B两组无明显变化,C组有少量形成软骨和骨性骨痂,D组骨样组织逐渐成熟骨化,形成新的骨组织,已有部分连续骨小梁;治疗后12周光镜检查发现A组无明显变化,B组有少量形成软骨和骨性骨痂,C组可见骨小梁增粗,骨小梁周围可见有成骨细胞,但数量不及D组;治疗后16周光镜检查发现A组无明显变化,B组可见骨岛形成,骨小梁较前增粗,可见少量骨化组织,未见连续骨小梁,C和D两组骨小梁粗大且致密,连续性较明显,可见大量正常骨成分及成骨细胞,但C组不如D组(见图4及表3)。

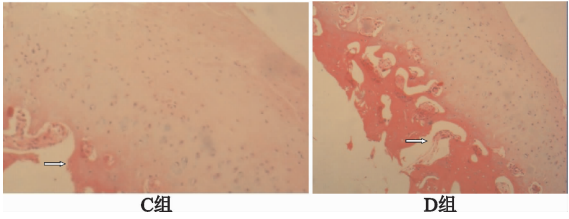


图4 治疗后16周光镜检查(苏木精-伊红染色,100×)

2.5 桡骨的骨痂钙元素水平

A组无明显骨痂生成,未做骨痂钙元素水平检测。治疗后4周骨痂钙元素水平检查发现B和C两组无明显变化,D组骨痂钙元素水平较B和C两组明显上升;治疗后8周骨痂钙元素水平检查发现B和C两组钙元素水平开始上升,治疗后12周骨痂钙元素水平检查B,C和D三组骨痂钙元素水平均较治疗后4周、8周显著上升;16周时骨痂钙元素水平达到最大值,见表4。

表 3 B,C,D 三组骨痂中成骨细胞计数(̄±s)

组别	治疗后 4 周	治疗后 8 周	治疗后 12 周	治疗后 16 周	t	P
单纯体外冲击波治疗组	5.87±1.25	6.02±1.05	25.34±6.87	42.58±4.87	5.178	<0.001
单纯自体细胞生长因子组	5.97±1.18	32.17±5.16	56.87±4.87	81.67±6.39	12.386	<0.001
体外冲击波联合自体细胞生长因子组	51.68±6.57	76.89±8.17	103.58±6.75	133.87±5.89	22.854	<0.001
F	421.75	657.51	845.17	1418.24		
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		

表 4 B,C,D 三组各时间点骨痂中钙元素水平比较(mg/g)(̄±s)

组别	治疗后 4 周	治疗后 8 周	治疗后 12 周	治疗后 16 周	t	P
单纯体外冲击波治疗组	2.89±0.28	2.96±0.35	4.35±0.31	5.51±0.28	0.175	<0.001
单纯自体细胞生长因子组	2.92±0.31	4.86±0.47	5.78±0.38	6.98±0.57	2.289	<0.001
体外冲击波联合自体细胞生长因子组	5.63±0.42	7.85±0.24	8.71±0.65	9.68±0.38	8.457	<0.001
F	28.05	45.07	68.57	110.75		
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		

3 讨论

骨不连是骨伤科常见的疾病之一,治疗效果差,是临床骨科、康复科的一大难题,给社会带来了沉重负担。对于骨不连的治疗,临床大多采用二次手术的方法,但这种方法给患者带来巨大的经济负担和心理负担。体外冲击波的使用及骨组织工程学和再生医学的发展,为骨不连的治疗开拓了一个新的途径。

体外冲击波是通过空气或气体传导的一种机械性脉冲压强波。目前,体外冲击波主要用于各种疼痛、结石、关节炎、股骨头坏死等疾病的治疗,其中治疗骨折疗效十分显著。骨的生长离不开力学因素刺激,因此利用体外冲击波使不同骨密度组织之间产生能量梯度差及扭拉力,可以达到治疗骨缺损的目的。体外冲击波治疗骨不连的原理是:冲击波刺激骨不连周围骨组织分泌,使骨不连区产生微小血管,增加血供^[6];同时会诱使成骨不连区域合成分泌大量促进细胞生长的各种细胞生长因子,促使骨细胞增生,最终使得骨折处完全愈合^[7]。

目前使用的细胞生长因子制备方法很多,大体上可分为手工制备和专用制备仪制备。研究发现,对全血采用不同的离心转速、次数、时间,所获得的细胞生长因子的浓度与活性也不相同。目前常用的手工制备方法有:Anitua 法、Aghaloo 法、Peturngaro 法及 Landesberg 法^[8-10]。虽然手工方法制备有很大差异,但这些方法都经过多次离心。采用手工和制备仪制备的是多种细胞生长因子的混合物。

笔者采用的生长因子制备方法是在美国尼欧再生医学公司的生长因子制备方法的基础上自主创新的。

该制备方法改变了以往细胞生长因子制备的繁琐方法,消除了传统制备的弊端。笔者通过物理、温控及离心调控获得的富血小板血浆,冷冻、融化后获得对骨组织生长有利的多种细胞生长因子,极大提高了实验效果。通过笔者的实验发现:治疗后 4 周,桡骨的大体观察、光镜检查、骨痂钙元素水平对照组、单纯体外冲击波组、单纯自体细胞生长因子组无明显变化,体外冲击波联合自体细胞生长因子组形成软骨和骨性骨痂,说明骨折已开始愈合;治疗后 8 周,单纯自体细胞生长因子组少量形成软骨和骨性骨痂,体外冲击波联合自体细胞生长因子组骨样组织逐渐成熟骨化,形成新的骨组织,已有部分连续骨小梁;治疗后 12 周,单纯体外冲击波组少量形成软骨和骨性骨痂,单纯自体细胞生长因子组骨小梁及成骨细胞数量不及体外冲击波联合自体细胞生长因子组;治疗后 16 周,单纯体外冲击波组可见少量骨化组织,未见连续骨小梁,单纯自体细胞生长因子组和体外冲击波联合自体细胞生长因子组的骨小梁粗大且致密,连续性较明显,可见大量正常骨成分及成骨细胞,但单纯自体细胞生长因子组不如体外冲击波联合自体细胞生长因子组。

与其他采用体外冲击波治疗骨不连的方法相比较^[11-15],笔者采用的方法有以下特点:1)采用自体细胞生长因子,避免免疫排斥反应;2)多点注射细胞生长因子使骨不连区产生微小血管,促使骨细胞增生,以达到促进骨不连愈合的目的。

综上所述,体外冲击波联合自体细胞生长因子可缩短骨不连治疗的时间,从而改变了以往骨不连的二次手术方法,为临床治疗骨不连提供了一种良好的协

同方法。

参考文献

- [1] 李恩,李平,韩永斌,等. 体外冲击波治疗骨不连临床研究[J]. 中国医学创新, 2016, 13(3): 11-14.
- [2] 陈剑,袁文,宋滇文. 富血小板血浆在骨愈合治疗中的作用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(41): 7755-7758.
- [3] 谭训香,金鑫,谭勇海,等. 自体骨髓联合细胞生长因子治疗胫腓骨骨不连 42 例的体会[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2016, 24(1): 44-45.
- [4] 谭勇海,姜红江,秦立武,等. 自体细胞生长因子治疗中青年股骨颈骨折延迟愈合 62 例[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2014, 22(4): 61-62.
- [5] 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[S]. 2006-09-30.
- [6] Hausdorf J, Sievers B, Schmitt-Sody M, et al. Stimulation of bone growth factor synthesis in human osteoblasts and fibroblasts after extracorporeal shock wave application[J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2011, 131(3): 303-309.
- [7] 余来,邢更彦. 体外冲击波通过激活 Wnt/Ca²⁺ 信号通路治疗骨质疏松症的研究进展[J]. 中国医学前沿杂志: 电子版, 2014, 6(6): 15-17.
- [8] Sonleitner D, Huemer P, Sullivan DY. A simplified technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate for intraoral bone grafting techniques: a technical

note[J]. Int J Oral Maxillofac Implants, 2000, 15(6): 879-882.

- [9] Landesberg R, Roy M, Glickman RS. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation[J]. J Oral Maxillofac Surg, 2000, 58(3): 297-300.
- [10] Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG. Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: a pilot study[J]. J Oral Maxillofac Surg, 2002, 60(10): 1176-1181.
- [11] 崔博,郑学清,舒畅,等. 体外冲击波诱导骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化[J]. 中国老年学杂志, 2012, 32(3): 554-556.
- [12] 宋轲,刘寰,武文亮,等. 骨髓间充质干细胞、血小板凝胶和体外冲击波联合应用治疗骨不连[J]. 山东大学学报: 医学版, 2016, 54(6): 1-6.
- [13] 郁少林,李宏宇,来文兵,等. 体外冲击波联合高压氧治疗骨不连的实验研究[J]. 重庆医学, 2015, 44(28): 3908-3910, 3914.
- [14] 赵子星,李宏宇,席立成,等. 体外冲击波疗法联合仙桃草口服用于兔桡骨骨不连临床效果观察[J]. 山东医药, 2016, 56(36): 31-33.
- [15] 张峰霖,李梅. 体外冲击波与外科手术治疗骨不连的临床效果对比分析[J]. 中国现代药物应用, 2014, 8(11): 61-62.

(收稿日期: 2018-03-11)

(上接第 4 页)

- [11] Dahlberg L, Billingham RC, Manner P, et al. Selective enhancement of collagenase-mediated cleavage of resident type II collagen in cultured osteoarthritic cartilage and arrest with a synthetic inhibitor that spares collagenase 1 (matrix metalloproteinase 1)[J]. Arthritis Rheum, 2000, 43(3): 673-682.
- [12] Aigner T, Dudhia J. Phenotypic modulation of chondrocytes as a potential therapeutic target in osteoarthritis: a hypothesis[J]. Ann Rheum Dis, 1997, 56(5): 287-291.
- [13] Sekiya I, Tsuji K, Koopman P, et al. SOX9 enhances aggrecan gene promoter/enhancer activity and is up-regulated by retinoic acid in a cartilage-derived cell line, TC6[J]. J Biol Chem, 2000, 275(15): 10738-10744.
- [14] Ushijima T, Okazaki K, Tsushima H, et al. CCAAT/enhancer-binding protein β regulates the repression of type

II collagen expression during the differentiation from proliferative to hypertrophic chondrocytes[J]. J Biol Chem, 2014, 289(5): 2852-2863.

- [15] Okubo Y, Reddi AH. Thyroxine downregulates Sox9 and promotes chondrocyte hypertrophy[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 306(1): 186-190.
- [16] Song Y, Xu K, Yu C, et al. The use of mechano growth factor to prevent cartilage degeneration in knee osteoarthritis[J]. J Tissue Eng Regen Med, 2018, 12(3): 738-749.
- [17] 李保驰,王维山,董金波,等. MMP-3、MMP-13 在骨性关节炎患者滑膜中的表达及意义[J]. 中国骨质疏松杂志, 2014, 20(6): 593-596.

(收稿日期: 2018-03-10)