

# 骨组织工程中促进血管化策略的研究进展

陈凯<sup>1</sup>, 张超<sup>1</sup>, 王路<sup>1</sup>, 毛雨彦<sup>2</sup>, 卢建熙<sup>3</sup>, 陈雷<sup>1</sup>

(1. 温州医科大学附属第一医院骨科, 浙江 温州 325000; 2. 温州医科大学, 浙江 温州 325000; 3. 上海贝奥路生物材料有限公司, 上海 200018)

**【摘要】** 随着骨组织工程的不断发展, 各种新型的骨移植材料为骨缺损的治疗提供了新的选择。目前骨组织工程技术面临的主要难点是保证骨移植材料在植入后早期、快速实现材料内部的血运重建, 即血管化问题。血管长入为骨组织的再生和重建提供必要的营养支持, 因此血管化一直是骨组织工程领域研究的焦点。然而目前还没有一种促血管化的金标准策略。支架材料、种子细胞和生长因子作为组织工程 3 个要素仍是目前各种促血管化策略努力的基本方向, 其中多种生长因子、多种细胞复合支架材料联合构建组织工程骨等方法取得了良好的血管化效果, 是近来研究的热点。

**【关键词】** 骨组织工程; 骨缺损; 血管化; 综述文献

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2015.04.021

**Progress on strategies to promote vascularization in bone tissue engineering** CHEN Kai, ZHANG Chao, WANG Lu, MAO Yu-yan, LU Jian-xi, and CHEN Lei\*. \*Department of Orthopaedics, the First Affiliated Hospital to Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, Zhejiang, China

**ABSTRACT** With the continuous development of bone tissue engineering, a variety of emerging bone graft materials provided various methods for repairing bone defects. Early and rapid accomplishment of revascularization of materials interior after implantation of bone transplantation materials is a difficulty faced to bone tissue engineering. Blood vessels ingrowth provides the requisite nutritional support for the regeneration reconstruction of bone tissue, for this reason, vascularization plays a significant role in bone tissue engineering. However, there is not a golden standard strategy of vascularization at present. Scaffold materials, cells and growth factors still are three indispensable elements in tissue engineering, and are cardinal points of the promoting vascularization strategies. Multiple growth factors or multiple cells combined with scaffolds, which are hot spots, have obtained excellent vascularization. This review focused on the comprehensive strategies for promoting the successful vascularization of tissue engineered scaffolds.

**KEYWORDS** Bone tissue engineering; Bone defect; Vascularization; Review literature

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2015, 28(4): 383-388 www.zggszz.com

骨组织工程中应用骨移植材料是治疗骨缺损最重要的途径之一, 而骨移植材料在植入后的早期快速血管化则直接影响该材料最终的临床使用。种子细胞、生物活性因子和支架材料被认为是组织工程的 3 个要素, 均对骨组织工程中的血管化进程起着关键作用。构建组织工程骨的过程可概括为获取一定数量具有血管化和成骨潜能的种子细胞, 并与带有生物活性因子的支架材料共同培养, 形成与自体骨结构功能相似的细胞-支架复合体, 再将其移植到目标部位实现血管化以促进缺损区的骨修复<sup>[1]</sup>。由此可见, 种子细胞是血管化和成骨的前提条件, 生物活性因子促进血管化及成骨的进展, 而支架材料则为血管及骨组织长入提供必需的结构支持。然而如

何更为高效地实现血管化目前仍无统一规范的应对手段, 依然是现今骨组织工程领域所面临的重大挑战。本文通过复习文献介绍国内外各种骨组织工程中促进血管化的策略, 综述如下。

## 1 骨组织工程的血管化机制

骨组织工程技术的成功运用主要依赖于支架材料内的血管网重建。细胞-支架复合体通过周围血管长入而建立血运、获取营养, 促进新生骨的长入, 达到修复骨缺损的目的; 相反, 血管化不足将导致移植材料与周围组织之间纤维囊形成, 从而限制其营养物质的摄取和代谢废物的排出<sup>[2]</sup>。研究显示<sup>[3]</sup>血管从周围组织长入支架的深度仅局限在 100~200  $\mu\text{m}$ , 而长入的血管对于种子细胞的营养供给也十分有限。当组织工程骨的厚度超过 100  $\mu\text{m}$  时, 功能性血管的长入将面临着严峻挑战<sup>[4]</sup>。此外, 血管网的形成时间如果过长, 种子细胞可能因未及时获得足够营

通讯作者: 陈雷 E-mail: chenlei689595@gmail.com

Corresponding author: CHEN Lei E-mail: chenlei689595@gmail.com

养支持而死亡成为异物。因此,如何实现骨移植材料在早期快速地完成血管化是保证种子细胞存活、实现最终骨组织再生重建的关键和难点。

血管化即新生血管出现之意,有血管生成(angiogenesis)和血管形成(vasculogenesis)之分,文献中常见两者混淆使用,但其相互意思是有所区别的<sup>[2,5]</sup>。血管生成严格意义上讲是指在原有的血管网基础上新生的血管,其发生需经历以下过程:血管生长因子作用于内皮细胞(endothelial cells, ECs)而促使 ECs 释放蛋白酶降解细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的基膜,引起 ECs 的迁移、增殖并出芽形成管状结构,这些管状结构以每天数微米的速度延伸并与周围血管相连接而形成新生血管,血管损伤的修复便是经历这样的一个过程;血管形成则是 ECs 自发形成血管样结构并与周围血管对接,通常是指最原始的血管生成过程。骨组织工程中的促血管化旨在促进支架周围血管长入支架内部,因此多是指血管生成这一过程。

骨缺损区域的骨修复过程是一个受低氧信号调控的过程。许多骨组织工程在体外有氧环境下的研究实验其实并不能准确模拟组织工程骨植入机体骨缺损区域后的真实条件,因为骨缺损区常伴有局部血管破坏而处于低氧状态。细胞是通过迅速表达缺氧诱导因子 1(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)而对低氧状态作出反应<sup>[6]</sup>。HIF-1 仅在缺氧条件下才可稳定持续的表达,它的活性高低直接影响着血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、血小板生长源性生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)和血管生成素(Ang)等促血管化因子的产生,进而调控着血管化进程。因此, HIF-1 是调控骨缺损处血管化的重要因子,然而目前在骨组织工程学中应用 HIF-1 促血管化的研究相对较为匮乏。可见,血管化是一个由支架材料、细胞和生长因子共同决定的复杂事件,3 个因素各司其职、缺一不可。下文将会进一步从 3 个因素角度介绍促血管化的基本策略。

## 2 支架材料对血管化的影响

理想的骨支架材料首先应能满足血管和骨组织长入的条件,还应具备良好的生物相容性、生物可降解性和机械支撑作用<sup>[7]</sup>:首先,支架材料为细胞黏附、增殖、长入和分化提供良好的三维空间支持,是种子细胞及生长因子发挥生物效应的“肥沃土壤”;其次,材料完成其作用后应能完全降解吸收并且产生的降解产物不会引起机体的免疫排斥反应,材料降解速度与成骨速度应能相互匹配以避免过早或过

迟的降解;最后,用于填充骨缺损处的支架材料应能满足骨本应具有强度要求,能够发挥良好的生物力学性能。

支架材料的三维立体多孔结构(孔径、孔隙率和内连接)对内皮细胞长入并形成密集的血管结构至关重要<sup>[8-9]</sup>。相对较大的孔径及较高的孔隙率为种子细胞提供了更充足的长入空间,以更好地为种子细胞提供营养支持并完成代谢废物的排出,因此更有利于血管化的进行。Chiu 等<sup>[8]</sup>发现具有较大孔径(50~100  $\mu\text{m}$  和 100~150  $\mu\text{m}$ )的聚乙二醇水凝胶可以实现整个支架内部的血管化,而小孔径(25~50  $\mu\text{m}$ )的支架只在其表面进行血管化,因此孔径大小与血管化程度密切相关。有学者<sup>[10]</sup>提出 90%孔隙率及 150  $\mu\text{m}$  孔径最有利于提高血管化水平。内连接为孔与孔之间的连接,直接影响着细胞在孔与孔之间的迁移和营养供给。与孔径大小相比,内连接大小(内连径)对血管化的影响更具意义。Bai 等<sup>[11]</sup>发现在保持内连径一定条件下增加多孔磷酸三钙生物陶瓷的孔径只能增加长入血管的管径大小,而保持孔径一定条件下增加内连径大小时则发现长入血管的管径和数量均增加;另外还发现在孔径大于 400  $\mu\text{m}$  的生物陶瓷中并未发现与之成正比的血管化程度,因此 400  $\mu\text{m}$  很可能是促血管化孔径大小的上限值。然而,多孔型结构材料虽然保证了血管与骨长入的空间条件,但是力学性能弱,不能满足骨本身应具有强度要求且不符合临床打压植骨的习惯需求。打压强度过高容易造成材料结构塌陷,强度过低则易造成骨缺损区填充不足。因此,如何使支架材料内既能有良好的血管化又能保证足够的力学强度是亟待解决的骨组织工程学难题。

除支架本身的结构特点可以影响种子细胞的生物活动外,支架材料还可以通过复合一些生物活性物质影响细胞的迁移和增殖。如聚乙二醇水凝胶虽因其能够提供与人体软组织结构相似的三维微环境而成为良好的支架材料,然而由于其生物惰性,单独使用并不能为细胞黏附和生长提供条件<sup>[12]</sup>。在其复合纤维蛋白原后可不同程度地促进了 ECs、间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)和胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)的黏附和增殖。此外,种子细胞的排列影响着所形成组织的微结构和生物功能,支架材料通过复合蛋白可以改变细胞的排列。Aubin 等<sup>[13]</sup>将明胶丙烯酸水凝胶复合具有特定微结构的蛋白而影响种子细胞的几何排列。这种支架材料复合生物活性蛋白的方法初步证实了对细胞的黏附和增殖是有效的,然而是否能有效促进血管化仍有待进一步研究。

### 3 种子细胞对血管化的影响

应用骨组织工程技术时,具有成血管潜能的种子细胞是形成血管网络的前提条件。ECs、MSCs、ESC 和诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)是常用的具血管化潜能的种子细胞。

#### 3.1 内皮细胞及内皮祖细胞

ECs 是构成血管壁的基础,任何一种诱导血管化的方法均是直接或间接地影响 ECs 的迁移、增殖和聚集。ECs 复合支架后在体外培养可形成类似血管的官腔样结构,将该结构植入机体后可与宿主的血管结合而实现血管化。Peters 等<sup>[14]</sup>将人类微血管内皮细胞(human dermal microvascular endothelial cells, HMVECs)种植在聚乳酸/聚甘醇酸共聚物(PLG)支架后植入小鼠,在 VEGF 的作用下,3 d 内可观察到不成熟的血管的形成,7 d 则有功能性血管生成。在组织工程学中所利用的 ECs 多来源于内皮祖细胞(EPCs)的分化。与 ECs 相比,EPCs 的培养条件要求相对较低,但却具有更强的黏附力、更高的扩增倍数且不易衰老。EPCs 与 ECs 联合培养时其促血管化的效果将更确切,Koga 等<sup>[15]</sup>将 EPCs 联合 ECs 复合于胶原凝胶中培养观察到了血管网络的建立,其长度、数量和长入深度均明显优于单纯使用 ECs。此外,ECs 还可与其他种类的细胞联合培养协同促进血管化。血管平滑肌是血管重要的组成部分,它维持着血管的弹性和功能。ECs 和血管平滑肌细胞可作为血管的前体组成共同诱导血管化发生。Hegen 等<sup>[16]</sup>将 HMVECs 联合血管平滑肌细胞引入富含基底膜蛋白的聚-L-乳酸(PLLA)支架后植入裸鼠皮下,植入后第 1 周便发现支架内形成了与宿主血管相通的微脉管系统。另外,ECs 和成骨细胞共同培养也可促进 ECs 的作用。Unger 等<sup>[17]</sup>将人真皮血管内皮细胞(HDMEC)在生物支架材料上培养时未能观察到类似毛细血管样的结构组织,而当将 HDMEC 与成骨细胞或成骨细胞样细胞株 MG-63 在体外共同培养后复合到同样的支架材料时则发现了明显的血管样官腔结构形成;另外,与成骨细胞共同培养时,HDMEC 的生存时间(42 d)明显高于单独培养时的生存时间(1 周)。

#### 3.2 间充质干细胞

MSCs 具有高度的自我更新能力和极强的多向分化潜能特性,既能分化为如骨、软骨和脂肪等结缔组织,也能诱导分化为 ECs 而形成血管样组织,因此具有成骨和成血管的双重作用<sup>[2]</sup>。MSCs 易于获取且来源广泛,是骨组织工程中极具应用前景的种子细胞来源。有学者将 MSCs 和 MSCs 来源的 ECs 共同种植于多孔磷酸三钙生物陶瓷去修复节段性骨缺损时

发现两者共同培养可以显著提高骨缺损区血管化水平、成骨反应以及机械性能<sup>[18]</sup>。周强等<sup>[19]</sup>将兔骨髓间充质干细胞(MSCs)诱导为成骨干细胞,扩增后接种到  $\beta$ -磷酸三钙生物陶瓷颗粒中,将构建的组织工程骨种植于股骨骨膜下发现 16 个标本中的 12 个植入组织工程骨周围有大量侧血管和新生骨形成,展现出了良好的骨修复潜能。

#### 3.3 胚胎干细胞

ESC 是一类多能干细胞,具有体外培养无限增殖、自我更新和多向分化的特性,无论在体外还是体内环境,ESC 都能被诱导分化为机体几乎所有的细胞类型。ESC 可以有效地向 ECs 分化并形成血管样结构<sup>[20]</sup>,并和宿主的血管相连通完成血管化<sup>[21]</sup>。ESC 是颇具应用前景的种子细胞,然而其可能发生的免疫排斥反应、畸胎瘤及胚胎干细胞使用所带来的伦理学问题限制了其在临床上的使用。

#### 3.4 诱导多能干细胞

iPSC 是采用导入外源基因方法使体细胞去分化为多能干细胞,亦具有多能分化潜力<sup>[22]</sup>。iPSCs 也可诱导分化为 ECs, Ruffaihah 等<sup>[23]</sup>用 BMP-4 和 VEGF 诱导 iPSCs 分化为 ECs,并将其注入下肢缺血大鼠体内,发现毛细血管网密度及下肢血液灌注显著高于对照组。Suzuki 等<sup>[24]</sup>用 VEGF 转染 iPSCs 来源的胎肝激酶-1(Flk-1)阳性细胞,然后将其注入到无胸腺下肢缺血的裸鼠体内,缺血肢体的血管形成及 VEGF 的表达显著增强和加快。尽管 iPSC 展现出了巨大的促血管化作用,然而,外源性基因通过病毒载体导入后,载体病毒对宿主的致病风险需警惕。

目前骨组织工程学所研究的种子细胞种类繁多,各类细胞生物特性均不同,如何综合全面考虑、权衡利弊地选取细胞,并通过研究的深入提高种子细胞的增殖能力、降低细胞的免疫原性将有力地促进种子细胞在骨组织工程中的应用。

### 4 生长因子对血管化的影响

生长因子直接或间接地调节着 ECs 细胞迁移、增殖和聚集,因此对血管化形成起着关键作用。在组织工程中引入生长因子将促进血管化进程。组织工程学中常用的生长因子包括 VEGF、PDGF、bFGF、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、转化生长因子- $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)和血管生成素-1 和 2(Ang-1、-2),这些因子在血管化过程中扮演着不同的角色。VEGF 是目前所知的最有效也是最常用的促血管生长因子,其主要作用机制是与 ECs 表面受体结合,促进细胞迁移、增殖并形成与宿主相吻合的功能性血管<sup>[25]</sup>。Murphy 等<sup>[26]</sup>采用可局部释放 VEGF 的生物支架材料修复颅

骨缺损时可以发现支架内部形成了与对照组相比更为致密的血管网络。PDGF 可以刺激周皮细胞的活动促进血管的成熟; bFGF 有较强的 ECs 趋化作用, 可诱导 ECs 迁移到特定部位<sup>[27]</sup>; TGF- $\beta$ 1 可刺激单核巨噬细胞释放 VEGF、PDGF 和 bFGF 共同发挥促血管化作用; Ang-1 和 Ang-2 通过与 ECs 表面的受体 Tie-2 结合而促进血管化。

由于生长因子缺乏稳定性且容易失活, 单独使用分解过快因此收效甚微。大多报道是采用生长因子与适宜的支架材料联合使用于特定的目标位置, 以实现生长因子的有效传递和可控释放。生长因子持续稳定的可控释放是理想的作用方式, 过度大量的释放将会对周边细胞产生毒性作用, 导致无功能血管、甚至肿瘤形成<sup>[28]</sup>。Golub 等<sup>[29]</sup>采用聚乳酸-羟基乙酸(PLGA)纳米颗粒包裹 VEGF 构成控释系统, VEGF 可维持 2~4 周的缓慢释放; 将其注入股动脉缺血小鼠模型时, 三维 Micro-CT 血管造影显示其血管形成的数量、密度均优于单独注射 VEGF 组及空白对照组。因此, 生长因子缓慢、持续地释放不但安全, 也更有助于促进血管化的发生。此外, 基因治疗技术也在生长因子控释方面有所建树, 将带有生长因子的基因片段通过载体病毒转染到种子细胞, 使种子细胞可以稳定持续表达该生长因子, 植入目标位置后将使该细胞具有更强的促血管化能力。Jabbarzadeh 等<sup>[30]</sup>将带有 VEGF 基因片段的腺病毒转染至脂肪间充质干细胞(adipose derived stem cells, AD-SCs), 并将其和 ECs 共同培养在 PLGA 支架上, 结果显示支架内的血管长入密度明显提高。基因治疗技术最主要的缺点是载体病毒所带来的不良反应, 这一反应有望通过修改载体病毒的基因编码得到解决。

体内血管化过程常常是由多种生长因子共同作用的级联反应过程, 因此在骨组织工程中多因子联合促血管化作用更为显著。Huang 等<sup>[31]</sup>对联用 FGF-2 和 VEGF 进行骨缺损区血管网络重建的研究, 结果表明在促进新血管形成上双因子明显优于单因子。Sun 等<sup>[32]</sup>在新构建的水凝胶基质上通过复合 VEGF+Ang-1 和 VEGF+胰岛素样生长因子(IGF)+基质细胞衍生因子(SDF-1)促血管化进程, 结果显示多种因子联合应用较使用任意一种单因子的对照组有更快、更致密、更成熟的血管系统形成。此外, 含多种生长因子(如 VEGF、PDGF 和 TGF- $\beta$  等)的富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)具有显著的促血管化作用, 在骨缺损修复方面也展现出了巨大的应用前景<sup>[33]</sup>。因此, 多因子联用的效果得到肯定, 然而哪些生长因子组合的联用可取得最佳的血管化效果仍有待研究。

## 5 其他方法对血管化的影响

### 5.1 显微外科技术

骨组织工程技术修复大面积(节段性)骨缺损需要在骨支架材料的中心部位实现真正的血管化, 这是骨组织工程技术的难点。很多学者尝试利用显微外科技术和组织工程相结合来解决这个难题。(1)动静脉环(arteriovenous loop, AVL)的构建。AVL 指将相邻的动静脉近心端用显微外科方法进行端-端吻合术, 形成动静脉短路环。AVL 环绕骨支架材料可依靠血管出芽方式促进支架材料中心部位的血管化。Dong 等<sup>[34]</sup>通过兔股动静脉构建 AVL 包绕组织工程珊瑚骨, 植入后发现支架材料表面及中心部位均形成了致密的血管网络且其血管网密度也显著高于对照组。(2)血管束法。血管束法与 AVL 稍有不同, 是指保持动静脉畅通并将血管束直接通过骨支架材料中间以促进支架材料中心部位的血管化。董青山等<sup>[35]</sup>通过同时构建 AVL 和血管束作用骨支架材料, 对比发现两者均可促进血管化, 然而 AVL 诱导血管新生的能力更强。(3)带蒂血管瓣。带蒂血管瓣是指采用筋膜瓣包裹或肌肉瓣植入支架材料以提供丰富的血运, 构建血管化的组织工程骨进而修复骨缺损。

显微外科技术对操作者技术要求较高, 且会对供区部位会造成创伤或畸形, 还会增加治疗费用和延长治疗时间, 给患者造成一定的负担, 因此目前难以在临床上推广使用。

### 5.2 血管网络的微细构建

骨支架材料中血管网络的微细构建常用的方法是软刻蚀技术, 该技术是通过将带有图案的弹性模板表面复制到与生物相容的材料上。带有特定图案的生物材料复合细胞后可调控细胞的有序排列以促进深部组织的材料血管化<sup>[36]</sup>。通过复制分支血管网的几何结构并与灌注系统连通可以形成流体动力, 因此这项技术可广泛用于微循环通道的制作。微接触印刷则是通过硫醇分子与金膜间的化学键作用而形成与毛细血管网结构特征类似的微型图案<sup>[37]</sup>。Fidkowski 等<sup>[38]</sup>将毛细血管图案刻蚀到硅片上, 并以此为模具将毛细血管网络翻印到具有生物相容性的可降解聚合材料, 即聚癸二酸丙三醇酯(poly glycerol sebacate, PGS)上, 然后接种 ECs 获得组织工程的微血管网。另一项研究在共同培养 MSCs 和 ECs 时, 运用软刻蚀技术模拟血管化早期血管生成, 并在此基础上研究机械外力对 VEGF 在有毛细血管网络图案的聚合材料中表达的影响<sup>[37]</sup>。因此, 微细构建技术是未来极具前景的组织工程技术, 应用该技术不但可以在体外研究生物材料的血管化情况及细胞的生物

学特征, 将构建的特定结构的支架材料植入机体后还可促进组织再生。然而将其用于在体试验还需解决生物材料的选择、支架的降解以及植入物的机械性能等问题。

## 6 展望

综上所述, 骨组织工程学中促血管化策略的研究主要是从组织工程 3 个要素出发, 即支架材料、种子细胞和生长因子。其他技术手段包括显微外科技术及血管网络的微细构建等方法也极具潜力。然而, 各种方法所存在的局限性也制约着其最终的临床应用: 如具有多孔型结构的支架材料虽然能保证血管长入然而机械力学性能不够, 需要寻求进一步新的制备工艺和设计思路以完善支架结构; 目前所应用的种子细胞生物学特征均不相同, 如何选择最优的种子细胞以保证细胞的较高增殖率而不发生免疫排斥反应是重点; 另外, 影响生长因子调控血管化过程的因素很多, 其中包括生长因子的类型、剂量浓度、作用时间及生长因子的组合联用等, 如何保证生长因子在植入后能稳定持续释放仍需积极探索。血管化是多因素共同作用的复杂生理过程, 多因素联合应用共同促血管化方式仍将是未来骨组织工程领域中促血管化的主流策略。相信随着骨组织工程技术研究的不断深入, 未来的骨移植材料定能形成早期、稳定的血管化。

### 参考文献

- [1] 赵天源, 孙红. 骨组织工程支架材料及其血管化的研究进程[J]. 中国组织工程研究, 2013, 38: 6832-6838.  
Zhao TY, Sun H. Insight into bone tissue engineering scaffold materials and their vascularization[J]. Zhongguo Zu Zhi Gong Cheng Yan Jiu, 2013, 38: 6832-6838. Chinese.
- [2] Harris GM, Rutledge K, Cheng Q, et al. Strategies to direct angiogenesis within scaffolds for bone tissue engineering[J]. Curr Pharm Des, 2013, 19(19): 3456-3465.
- [3] Lovett M, Lee K, Edwards A, et al. Vascularization strategies for tissue engineering[J]. Tissue Eng Part B Rev, 2009, 15(3): 353-370.
- [4] Yu H, VandeVord PJ, Mao L, et al. Improved tissue-engineered bone regeneration by endothelial cell mediated vascularization[J]. Biomaterials, 2009, 30(4): 508-517.
- [5] Hendrickx B, Vranckx JJ, Luttun A. Cell-based vascularization strategies for skin tissue engineering[J]. Tissue Eng Part B Rev, 2011, 17(1): 13-24.
- [6] Adams JM, Difazio LT, Rolandelli RH, et al. HIF-1: a key mediator in hypoxia[J]. Acta Physiol Hung, 2009, 96(1): 19-28.
- [7] Wang X, Han C, Hu X, et al. Applications of knitted mesh fabrication techniques to scaffolds for tissue engineering and regenerative medicine[J]. J Mech Behav Biomed Mater, 2011, 4(7): 922-932.
- [8] Chiu YC, Cheng MH, Engel H, et al. The role of pore size on vascularization and tissue remodeling in PEG hydrogels[J]. Biomaterials, 2011, 32(26): 6045-6051.
- [9] Keskar V, Marion NW, Mao JJ, et al. In vitro evaluation of macroporous hydrogels to facilitate stem cell infiltration, growth, and mineralization[J]. Tissue Eng Part A, 2009, 15(7): 1695-1707.
- [10] Kasoju N, Bionde RR, Bora U. Preparation and characterization of Antheraea assama silk fibroin based novel non-woven scaffold for tissue engineering applications[J]. J Tissue Eng Regen Med, 2009, 3(7): 539-552.
- [11] Bai F, Wang Z, Lu J, et al. The correlation between the internal structure and vascularization of controllable porous bioceramic materials in vivo: a quantitative study[J]. Tissue Eng Part A, 2010, 16(12): 3791-3803.
- [12] Zhu J. Bioactive modification of poly(ethylene glycol) hydrogels for tissue engineering[J]. Biomaterials, 2010, 31(17): 4639-4656.
- [13] Aubin H, Nichol JW, Hutson CB, et al. Directed 3D cell alignment and elongation in microengineered hydrogels[J]. Biomaterials, 2010, 31(27): 6941-6951.
- [14] Peters MC, Polverini PJ, Mooney DJ. Engineering vascular networks in porous polymer matrices[J]. J Biomed Mater Res, 2002, 60(4): 668-678.
- [15] Koga M, Sudo R, Abe Y, et al. Contribution of rat endothelial progenitor cells on three-dimensional network formation in vitro[J]. Tissue Eng Part A, 2009, 15(9): 2727-2739.
- [16] Hegen A, Blois A, Tiron CE, et al. Efficient in vivo vascularization of tissue-engineering scaffolds[J]. J Tissue Eng Regen Med, 2011, 5(4): e52-62.
- [17] Unger RE, Sartoris A, Peters K, et al. Tissue-like self-assembly in cocultures of endothelial cells and osteoblasts and the formation of microcapillary-like structures on three-dimensional porous biomaterials[J]. Biomaterials, 2007, 28(27): 3965-3976.
- [18] Zhou J, Lin H, Fang T, et al. The repair of large segmental bone defects in the rabbit with vascularized tissue engineered bone[J]. Biomaterials, 2010, 31(6): 1171-1179.
- [19] 周强, 汪洋, 虞杰, 等. 新西兰大白兔骨膜下组织工程骨异位成骨的实验研究[J]. 中国骨伤, 2011, 24(10): 838-840.  
Zhou Q, Wang Y, Yu J, et al. Experimental study of ectopic bone formation of engineered bone constructs under the periosteum of New-Zealand rabbits[J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2011, 24(10): 838-840. Chinese with abstract in English.
- [20] Kane NM, Meloni M, Spencer HL, et al. Derivation of endothelial cells from human embryonic stem cells by directed differentiation: analysis of microRNA and angiogenesis in vitro and in vivo[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010, 30(7): 1389-1397.
- [21] Huang NF, Niiyama H, Peter C, et al. Embryonic stem cell-derived endothelial cells engraft into the ischemic hindlimb and restore perfusion[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010, 30(5): 984-991.
- [22] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors[J]. Cell, 2006, 126(4): 663-676.
- [23] Rufaihah AJ, Huang NF, Jame S, et al. Endothelial cells derived from human iPSCs increase capillary density and improve perfusion in a mouse model of peripheral arterial disease[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011, 31(11): e72-79.
- [24] Suzuki H, Shibata R, Kito T, et al. Therapeutic angiogenesis by transplantation of induced pluripotent stem cell-derived Flk-1 positive cells[J]. BMC Cell Biol, 2010, 11: 72.
- [25] Singh S, Wu BM, Dunn JC. Accelerating vascularization in polycaprolactone scaffolds by endothelial progenitor cells[J]. Tissue

- Eng Part A, 2011, 17(13-14): 1819-1830.
- [26] Murphy WL, Simmons CA, Kaigler D, et al. Bone regeneration via a mineral substrate and induced angiogenesis[J]. J Dent Res, 2004, 83(3): 204-210.
- [27] Chim SM, Tickner J, Chow ST, et al. Angiogenic factors in bone local environment[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2013, 24(3): 297-310.
- [28] Epstein SE, Fuchs S, Zhou YF, et al. Therapeutic interventions for enhancing collateral development by administration of growth factors; basic principles, early results and potential hazards[J]. Cardiovasc Res, 2001, 49(3): 532-542.
- [29] Golub JS, Kim YT, Duvall CL, et al. Sustained VEGF delivery via PLGA nanoparticles promotes vascular growth[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010, 298(6): H1959-1965.
- [30] Jabbarzadeh E, Starnes T, Khan YM, et al. Induction of angiogenesis in tissue-engineered scaffolds designed for bone repair; a combined gene therapy-cell transplantation approach[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(32): 11099-11104.
- [31] Huang YC, Kaigler D, Rice KG, et al. Combined angiogenic and osteogenic factor delivery enhances bone marrow stromal cell-driven bone regeneration[J]. J Bone Miner Res, 2005, 20(5): 848-857.
- [32] Sun G, Shen YI, Kusuma S, et al. Functional neovascularization of biodegradable dextran hydrogels with multiple angiogenic growth factors[J]. Biomaterials, 2011, 32(1): 95-106.
- [33] 陈帅, 张宁, 陈维善, 等. 富血小板血浆修复骨缺损的机制研究进展[J]. 中国骨伤, 2012, 25(3): 258-261.
- Chen S, Zhang N, Chen WS, et al. Research progress of the mechanism of repairing bone defect with PRP[J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2012, 25(3): 258-261. Chinese with abstract in English.
- [34] Dong QS, Lin C, Shang HT, et al. Modified approach to construct a vascularized coral bone in rabbit using an arteriovenous loop[J]. J Reconstr Microsurg, 2010, 26(2): 95-102.
- [35] 董青山, 商洪涛, 张圃, 等. 兔动静脉短路环法诱导组织工程骨支架材料血管生成的初步研究[J]. 中华创伤骨科杂志, 2009, 11(6): 551-554.
- Dong QS, Shang HT, Zhang P, et al. Inducing angiogenesis at tissue engineered bone scaffold by an arteriovenous loop in rabbits [J]. Zhonghua Chuang Shang Gu Ke Za Zhi, 2009, 11(6): 551-554. Chinese.
- [36] Raghavan S, Nelson CM, Baranski JD, et al. Geometrically controlled endothelial tubulogenesis in micropatterned gels[J]. Tissue Eng Part A, 2010, 16(7): 2255-2263.
- [37] Rivron NC, Vrij EJ, Rouwkema J, et al. Tissue deformation spatially modulates VEGF signaling and angiogenesis[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012, 109(18): 6886-6891.
- [38] Fidkowski C, Kaazempur-Mofrad MR, Borenstein J, et al. Endothelialized microvasculature based on a biodegradable elastomer[J]. Tissue Eng, 2005, 11(1-2): 302-309.

(收稿日期: 2014-03-12 本文编辑: 李宜)

## 第 6 届国际创伤骨科高峰论坛通知

由中华创伤骨科杂志、中国医师协会骨科医师分会创伤骨科工作委员会、中国香港骨科医学会、中国澳门骨科学会、中华骨科交流学会(中国台湾)主办,南方医科大学南方医院、第四军医大学国际骨科教育学院、中华骨科网、骨科在线联合承办,AsiaClub 协办的“第 6 届国际创伤骨科高峰论坛”将于 2015 年 5 月 29-31 日(周五、六、日)在广州白云国际会议中心举行。本届论坛的主题是创伤骨科创新与发展,采用大师讲坛和专题论坛的形式。大师讲坛将邀请裴国献、张英泽、王满宜、曾炳芳、姜保国、唐佩福、David Ring(美国)、Gregory Della Rocca(美国)、曹旭(美国)、Nayagam(英国)、Qi Yin(英国)、Richard-Buckley(加拿大)、Stuart Miles Gold(美国)等国内外著名骨科专家进行讲演。专题论坛包括:肢体功能重建与骨折并发症、骨科转化医学与数学骨科、骨盆与髌臼骨折、髌部骨折、膝关节损伤、足踝部损伤、肩肘关节损伤、脊柱脊髓损伤、腕部损伤等。会议结束后正式代表将获得继续医学教育 I 类学分 8 分。现将会议事项通知如下:1. 会议时间:2015 年 5 月 29-31 日。2. 会议地点:广州白云国际会议中心。3. 会议征文要求:论文未曾公开发表,含有结构式摘要,注明联系人及方式,仅接受 E-mail 方式投稿, E-mail: chinjot@aliyun.com(邮件主题请注明“第 6 届国际创伤骨科高峰论坛征文”),征文截止日期:2015 年 4 月 10 日。4. 注册费用:会前注册(2015 年 4 月 30 日前):人民币 800 元/人(含资料费),现场注册(2015 年 4 月 30 日后):人民币 1000 元/人(含资料费),住宿费用自理。请在线注册、预定房间: <http://isfot.medmeeting.org>。5. 联系人:广州市广州大道北 1838 号南方医院《中华创伤骨科杂志》编辑部聂兰英(13539792496)、张宁(13570304885)、张以芳(15913160654), 邮编: 510515, 电话: 020-61641748, E-mail: chinjot@aliyun.com。投稿和注册网址: <http://isfot.medmeeting.org/>。会议优秀稿件还将推荐在《中华创伤骨科杂志》发表。