

# 骨髓间充质干细胞成骨分化的研究与进展

董晨露, 刘笑涵, 吴琳

(中国医科大学附属口腔医院, 辽宁 沈阳 110000)

**【摘要】** 超临界大面积或大段骨缺损仍是临床面临的难题, 研究者们致力于研发人工骨材料, 但为了解决人工骨材料成骨效应不良的问题, 人们越来越关注骨髓间充质干细胞在骨组织工程中的应用。本综述以骨髓间充质干细胞、成骨分化、成骨细胞、临床应用“Bone marrow mesenchymal stem cells, osteogenesis differentiation, osteoblasts cell, clinical application”为检索词, 应用计算机搜索 CNKI 数据库、万方数据库、维普数据库、PUBMED 数据库, 全面归纳总结骨髓间充质干细胞的分离培养、骨髓间充质干细胞鉴定方法、成骨诱导方法、成骨分化鉴定及其在临床中的应用, 为证实其作为种子细胞治疗骨组织疾病提供理论依据。学者们初步研究了骨髓间充质干细胞结合移植、组织工程等技术来治疗骨和软骨缺损、骨关节炎、股骨头坏死等疾病, 均取得了较好的临床疗效。但是骨髓间充质干细胞会有一些的优缺点, 其临床试验及远期疗效的验证还需进一步深入研究。

**【关键词】** 骨髓间充质干细胞(BMSCs); 成骨分化; 成骨细胞; 临床应用

中图分类号: R318

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2019.03.018

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



**Research and development of osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells** DONG Chen-lu, LIU Xiao-han, and WU Lin. China Medical University School & Hospital of Stomatology, Shenyang 110000, Liaoning, China

**ABSTRACT** Supercritical large area or large segmental bone defects are still a clinical problem. Researchers are committed to the development of artificial bone materials, but in order to solve the problem of poor bone formation of artificial bone materials, people are paying more and more attention to application of bone marrow mesenchymal stem cells in bone tissue engineering. In this review, bone marrow mesenchymal stem cells, osteogenic differentiation, osteoblasts cells, clinical application were used as keywords to search CNKI database, Wanfang database, Weipu database and PUBMED database by computer. The isolation and culture of bone marrow mesenchymal stem cells, bone marrow mesenchymal stem cell identification method, osteogenic induction method, osteogenic differentiation identification and clinical application were comprehensively summarized in order to provide a theoretical basis for its use as a seed cell in the treatment of bone tissue diseases. Scholars have preliminarily studied the treatment of bone and cartilage defects, osteoarthritis, femoral head necrosis and other diseases with bone marrow mesenchymal stem cells combined with transplantation, and obtained good clinical efficacy. However, bone marrow mesenchymal stem cells have certain advantages and disadvantages, and further clinical studies and long-term efficacy verification are needed.

**KEYWORDS** Bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs); Osteogenic differentiation; Osteoblasts; Clinical application

目前, 自体骨移植、异体骨移植、人工骨替代品移植是骨缺损的主要治疗手段, 但是各种方法均有局限性, 导致临床效果不佳。自体骨取骨量有限且创伤较大, 容易导致术后感染和并发症。异体骨移植虽来源不受限, 但是具有潜在的免疫应答风险<sup>[1-2]</sup>。因此, 快速、安全的骨缺损修复方法成为近年来骨伤病

领域的研究方向。骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 起源于中胚层细胞, 是一种具有多谱系分化、增殖能力强且易于基因转染等特点的多潜能干细胞, 在不同条件下可分化为成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、神经细胞等<sup>[3-6]</sup>。BMSCs 取材方便、低免疫原性、易于基因转染<sup>[7]</sup>, 并且通过特定基因转染 BMSCs 可以有效抑制同种异体移植后的免疫排斥反应。所以 BMSCs 是再生医学和组织工程的重要来源细胞。

## 1 BMSCs 的分离培养和鉴定

### 1.1 BMSCs 分离培养

BMSCs 来源有限, 在骨髓中的含量极少, 只有

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863 计划) (编号: 2015AA033702)

Fund program: The National High Technology Research and Development Program of China (863 Program) (No.2015AA033702)

通讯作者: 吴琳 E-mail: wulin13@163.com

Corresponding author: WU Lin E-mail: wulin13@163.com

0.01%~0.1%<sup>[8]</sup>, 但 BMSCs 在体外有较强的增殖能力, 传代次数对细胞增殖能力影响较小<sup>[9]</sup>。目前, 国际上对于 BMSCs 体外分离培养的方法主要包括全骨髓贴壁法、密度梯度离心法、流式细胞术分选法、免疫磁珠法。其中最常用的为全骨髓培养法和密度梯度离心法<sup>[10]</sup>。

流式细胞术分选法和免疫磁珠法是利用荧光和磁珠标记 BMSCs 表面抗原, 其优点是操作较简单, 分选精确度高, 速度快, 缺点为在分选过程中可造成细胞破坏和死亡, 仪器设备昂贵, 所需细胞数量较多, 较少采用<sup>[11]</sup>。

密度梯度离心法优点是操作简便, 缺点是破坏了生长因子和完整的原始 BMSCs 微环境, 不利于 BMSCs 集落。

全骨髓贴壁培养法对细胞损伤小, 细胞增殖迅速, 可以获得高纯度、高活性的 BMSCs。因此, 全骨髓贴壁法是一种简单、有效的体外培养方法<sup>[12-14]</sup>。

## 1.2 BMSCs 鉴定

BMSCs 可以表达多种表面抗原, 但是缺乏特异性表面标志物, 目前尚无统一鉴定 BMSCs 的方法, 最常采用的是流式细胞术和免疫荧光染色法, 可使用倒置显微镜观察细胞形态变化作为辅助鉴定。

流式细胞术: 骨髓中主要有造血干细胞和 BMSCs, BMSCs 主要表达 CD44、CD90 等表面标志物, 而不表达造血细胞表面标志物 CD34、CD45<sup>[15]</sup>。流式细胞术通过荧光标记的单克隆抗体而将细胞分选, BMSCs 鉴定结果显示 CD29、CD90、CD44 阳性, CD34、CD45 阴性, 从而与造血干细胞相鉴别。

免疫荧光染色法: 通过用免疫荧光三重技术鉴定 BMSCs 表面抗原表达, 在激光共聚焦显微镜下观察骨髓间充质细胞表达 CD29、CD90, 不表达 CD45<sup>[16]</sup>。

## 2 BMSCs 体外定向分化为成骨细胞的诱导方法

BMSCs 在体外成骨分化很大程度上依赖于成骨诱导培养基, 成骨诱导培养基包括成分地塞米松 (Dex)、 $\beta$ -甘油磷酸钠 ( $\beta$ -GP) 和维生素 C (Vit C), 它们是 BMSCs 干细胞骨向分化的基本辅剂<sup>[17]</sup>。Dex 可有效增强骨形态蛋白-2 (BMP-2) 的成骨能力, 诱导 BMSCs 选择性增殖, 刺激核心结合因子  $\alpha$ 1 (RUNX2)、碱性磷酸酶 (ALP)、骨桥蛋白 (OPN) 和骨钙素 (OCN) 的表达, 增加 ALP 的 mRNA 表达水平<sup>[18-19]</sup>。 $\beta$ -GP 作为羟基磷灰石中磷酸盐的来源, 提供磷离子, 诱导激活 ALP, 并影响细胞内信号分子。Vit C 是胶原脯氨酰羟化酶的辅助因子, 调控细胞外基质胶原稳态, 并增强 DNA 活性, 促进细胞分化<sup>[20]</sup>。近年来, 据报道有多种不同类别的物质具有促进 BMSCs 体外成骨分化的作用, 可显著提高 BMSCs 细

胞纯度。

## 2.1 中药提取物

有些中药成分具有促进 BMSCs 成骨分化和增殖的作用, 有利于骨缺损的修复<sup>[21]</sup>。鲍远等<sup>[22]</sup>采用含淫羊藿苷的成骨诱导培养基培养 BMSCs 作为实验组, 不含淫羊藿苷作为对照组。结果显示实验组成骨基因表达和钙结节数量明显高于对照组, 证实淫羊藿苷和成骨诱导培养基具有协同促进成骨分化的效应。张洪跃等<sup>[23]</sup>在 BMSCs 成骨诱导培养基中加入不同浓度梯度的补骨脂素, 结果显示补骨脂素能通过调控 RUNX2 和 OCN 蛋白的表达来促进成骨分化, 从而有助于维持骨代谢动力平衡。

## 2.2 生物材料

有些生物材料可促进骨形成蛋白表达, 进而增强 BMSCs 成骨分化能力。易兵成等<sup>[24]</sup>通过用不同浓度的丝素蛋白溶液培养 BMSCs, 结果显示 0.05% 的丝素蛋白溶液能促进 BMSCs 的增殖和碱性磷酸酶的表达。Lin 等<sup>[25]</sup>将 BMSCs 与结合 Sr 元素的多孔硅酸钙陶瓷材料 (SrCS) 离子提取物复合培养, 体外实验表明 SrCS 释放的 Sr 和 Si 元素可提高 BMSCs 成骨基因和 mRNA 表达水平。

## 2.3 其他

富血小板血浆 (PRP) 是高度浓缩的血小板, 其内含有多生长因子, 可以促进 BMSCs 的增殖和分化。Zou 等<sup>[26]</sup>分别采用 PRP 增强培养基和对照培养基体外培养兔 BMSCs, 结果显示与对照组相比, PRP 组 BMSCs 增长迅速, ALP 染色为强阳性, OCN 和 OPN 的 mRNA 表达水平高。此外, 激素也可以诱导 BMSCs 向成骨细胞分化, Niada 等<sup>[27]</sup>采用  $17\beta$ -雌二醇增强培养基处理 BMSCs 作为实验组, 标准培养基作为对照组, 结果显示 ALP 活性增强, 脂质空泡形成增加。

## 3 成骨分化鉴定

成骨细胞是骨形成的主要功能单位, 在骨组织工程中具有重要作用。目前, 鉴定成骨细胞的方法主要有: 形态学观察法、碱性磷酸酶染色法、茜素红染色法。

形态学观察法: 通常是用倒置显微镜观察其形状特征, 经成骨诱导后, 细胞由长梭形变为多边形, 细胞核成卵圆形, 细胞有聚集成团的生长特性, 并可见细胞结节<sup>[28]</sup>。

碱性磷酸酶染色法: 碱性磷酸酶是成骨细胞成熟的标志性酶之一, 在细胞外基质矿化中起关键作用, 功能活跃的成骨细胞碱性磷酸酶染色为阳性<sup>[29-30]</sup>。目前常用的染色方法有钙钴法和偶氮偶联法。采用钙钴法颗粒为灰黑色, 采用偶氮偶联法颗粒

为红色。

茜素红染色法：茜素红染色是一种对钙质的特异性染色方法。用于染色骨组织中的矿化成分，与钙剂相结合而着色。成骨细胞可在体外矿化，形成矿化结节，经茜素红染色为红色<sup>[31]</sup>。

#### 4 BMSCs 在临床中的应用

BMSCs 是骨组织工程中最常用的细胞来源，它可以通过分化直接参与组织修复与再生<sup>[32]</sup>。目前，BMSCs 已经成功地重建了骨缺损、骨关节炎(OA)、骨坏死、骨折重塑等。

##### 4.1 BMSCs 治疗骨缺损

目前直接应用骨移植治疗骨缺损的方法受到移植体与宿主骨不完全整合和不完全血管化的限制，因此细胞疗法作为骨缺损修复的替代疗法逐渐成为学者们关注的热点<sup>[33-34]</sup>。

BMSCs 在一定条件下可分化为成骨细胞，负责骨基质的合成、分泌和矿化，从而实现骨再生。Osugi 等<sup>[35]</sup>将含细胞因子的细胞培养基移植到骨缺损部位，结果显示 BMSCs 迁移至缺损部位的数量较多并促进骨缺损的修复。Dogan 等<sup>[36]</sup>构建股骨缺损模型，将 BMSCs 移植到含硼的聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)支架中，结果显示，含硼 PLGA 支架可提高 OC、I 型胶原蛋白表达水平。Wei 等<sup>[37]</sup>证实聚己内酯(PCL)支架可以促进 BMSCs 增殖和分化，增强骨形成与骨整合。

##### 4.2 BMSCs 治疗骨关节炎

骨关节炎是关节的常见慢性退行性疾病。BMSCs 具有免疫调节特性、抗炎症和再生骨软骨的能力，自体 BMSCs 移植治疗因其安全性、可行性和良好的临床疗效，可为预防甚至逆转关节退化提供新的思路<sup>[38-39]</sup>。

Vega 等<sup>[40]</sup>将 30 例骨关节炎患者进行随机分组，实验组在关节内注射 BMSCs，对照组进行关节内透明质酸注射，追踪观察结果显示 BMSCs 处理组患者功能演算指数(algofunctional index)和软骨质量显著改善。骨髓病变可能与 OA 的进展密切相关，骨髓病变区的 BMSCs 增殖分化能力低，故用健康的 BMSCs 替换软骨下病变区的 BMSCs 是一种治疗 OA 的有效手段<sup>[41]</sup>。

##### 4.3 BMSCs 治疗股骨头坏死(ONFH)

股骨头坏死常用的治疗方法为全髋关节置换术，但术后存在较大风险，目前应用 BMSCs 治疗股骨头坏死显示出良好的应用前景。Fu 等<sup>[42]</sup>将体外分离的兔 BMSCs 移植到建立的兔 ONFH 模型中，采用 RT-PCR 技术检测成骨相关基因 BMP-2 和成脂相关基因 PPAR- $\gamma$  的表达水平，结果显示 BMP-2 表达

上调，PPAR- $\gamma$  表达下调，兔 BMSCs 移植有利于 ONFH 的治疗。

此外，BMSCs 与 PRP 联合治疗股骨头坏死具有良好的疗效，PRP 可以促进 BMSCs 的增殖和分化<sup>[43]</sup>。目前，低强度脉冲超声(LIPUS)与自体 BMSCs 移植联合应用治疗股骨头坏死显示出良好的促进新骨形成的作用，具有安全性和有效性<sup>[44]</sup>。

##### 4.4 BMSCs 修复椎间盘和软骨

椎间盘由 3 部分组成：关节盘软骨、髓核、纤维盘。应用传统手术修复椎间盘不能逆转退化，只能缓解疼痛，组织工程技术成为修复和再生椎间盘的最佳治疗方法<sup>[45]</sup>。Li 等<sup>[46]</sup>采用在地塞米松磷酸钠溶液基础上添加 BMSCs 的处理作为实验组来处理纤维环变形的椎间盘，发现实验组椎间盘厚度和胶原水平明显升高，显示出 BMSCs 修复纤维环的有效性。

在临床治疗领域，修复软骨缺损的关键是再生的软骨与周围软骨的整合。Araki 等<sup>[47]</sup>建立猕猴髌骨沟软骨缺损模型，实验组分为两组，一组在骨缺损处插入 BMSCs 和胶原凝胶，另一组只单独插入胶原凝胶，对照组未处理。结果显示 BMSCs 处理组软骨质量较好，并且与周围天然软骨无缝密合。

#### 5 总结与展望

MSC 具有多能分化活性，在医学上也被成为“多能细胞”，不仅具有成骨分化活性，而且能够修复神经系统，在细胞治疗和基因治疗方面也具有广泛的应用前景<sup>[48]</sup>。其成骨活性的研究对骨缺损，成骨减少和障碍类疾病具有重要指导意义，但现阶段仍具有一定的局限性：BMSCs 在特定条件下可增殖并分化为成骨细胞，但 BMSCs 增殖分化能力随年龄增长不断减退，自我更新能力有限，在骨髓中含量很低，自体 BMSCs 的可用受限，因此 BMSCs 体外扩增技术与同种异体 BMSCs 移植后降低免疫排斥反应仍是关注的热点之一<sup>[49]</sup>；BMSCs 在骨组织工程中的应用近年来已取得较大的进展，但是对于大段骨缺损，BMSCs 与生物材料复合物植入体内后如何及时建立血供连接仍需进一步研究<sup>[50]</sup>，并且成骨是否可以满足临床需要的标准还需要进一步检验，目前缺乏长期随访的病例。科学发展的不断进步将为 BMSCs 的发展提供广阔的应用前景。

##### 参考文献

[1] 杜辉,付勤. 同种异体骨移植与自体骨移植修复四肢粉碎性骨折:骨性愈合及骨活性比较[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(8): 1206-1210.

DU H, FU Q. Allogenic bone transplantation versus autologous bone grafting for repair of limb comminuted fractures: bony union and bone activity[J]. Zhongguo Zu Zhi Gong Cheng Yan Jiu, 2015, 19(8): 1206-1210. Chinese.

[2] Hernigou P. Bone transplantation and tissue engineering. Part II:

- bone graft and osteogenesis in the seventeenth, eighteenth and nineteenth centuries (Duhamel, Haller, Ollier and MacEwen) [J]. *Int Orthop*, 2015, 39(1): 193–204.
- [3] Jiang X, Huang B, Yang H, et al. TGF- $\beta$ 1 is involved in Vitamin D-induced chondrogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells by regulating the ERK/JNK pathway [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42(6): 2230–2241.
- [4] Gardner OF, Alini M, Stoddart MJ. Mesenchymal stem cells derived from human bone marrow [J]. *Methods Mol Biol*, 2015, 1340: 41–52.
- [5] Harada Y, Nakasa T, Mahmoud EE, et al. Combination therapy with intra-articular injection of mesenchymal stem cells and articulated joint distraction for repair of a chronic osteochondral defect in the rabbit [J]. *J Orthop Res*, 2015, 33(10): 1466–1473.
- [6] Mohammad MH, Al-Shammari AM, Al-Juboory AA, et al. Characterization of neural stemness status through the neurogenesis process for bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *Stem Cells Cloning*, 2016, 9: 1–15.
- [7] 韩振霞, 时庆, 汪大琨, 等. 骨髓源与脐带源间充质干细胞的基本生物学特征比较 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2013, 21(5): 1248–1255.  
HAN ZX, SHI Q, WANG DK, et al. Basic biological characteristics of mesenchymal stem cells derived from bone marrow and human umbilical cord [J]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, 2013, 21(5): 1248–1255. Chinese.
- [8] 张浩, 廖伟雄, 李冀, 等. 兔骨髓来源的间充质干细胞的分离培养及其生物学特性研究 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2015, 23(2): 500–505.  
ZHANG H, LIAO WX, LI J, et al. Isolation and biological characteristics of rabbit bone marrow plug-derived mesenchymal stem cells [J]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, 2015, 23(2): 500–505. Chinese.
- [9] 马笃军, 彭力平, 王立新, 等. 实验兔骨髓间充质干细胞的分离、培养及鉴定 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2017, 36(1): 99–104.  
MA DJ, PENG LP, WANG LX, et al. Isolation, culture and identification of experimental rabbit bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *Ji Yin Zu Xue Yu Ying Yong Sheng Wu Xue*, 2017, 36(1): 99–104. Chinese.
- [10] 蔡金宏, 林春博, 杨渊, 等. 间充质干细胞分离方法的研究与进展 [J]. *中国组织工程研究*, 2014, 18(45): 7375–7380.  
CAI JH, LIN CB, YANG Y, et al. Isolation methods of mesenchymal stem cells [J]. *Zhongguo Zu Zhi Gong Cheng Yan Jiu*, 2014, 18(45): 7375–7380. Chinese.
- [11] Mayle A, Luo M, Jeong M, et al. Flow cytometry analysis of murine hematopoietic stem cells [J]. *Cytometry Part A*, 2013, 83(1): 27–37.
- [12] Xia CS, Zuo AJ, Wang CY, et al. Isolation of rabbit bone marrow mesenchymal stem cells using density gradient centrifugation and adherence screening methods [J]. *Minerva Medica*, 2013, 104(5): 519.
- [13] Li X, Zhang Y, Qi G. Evaluation of isolation methods and culture conditions for rat bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *Cytotechnology*, 2013, 65(3): 323.
- [14] 王荣, 李秀霞, 周胜虎, 等. 全骨髓贴壁法离体培养大鼠骨髓间充质干细胞及其生物学特征鉴定 [J]. *甘肃科技*, 2017, 33(4): 103–105.  
WANG R, LI XX, ZHOU SH, et al. Culture of rat bone marrow mesenchymal stem cells by whole bone marrow adherence method and its biological characteristics [J]. *Gan Su Ke Ji*, 2017, 33(4): 103–105. Chinese.
- [15] Hall SR, Jiang Y, Leary E, et al. Identification and isolation of small CD44-negative mesenchymal stem/progenitor cells from human bone marrow using elutriation and polychromatic flow cytometry [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2013, 2(8): 567–578.
- [16] Song K, Huang M, Shi Q, et al. Cultivation and identification of rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells [J]. *Mole Med Rep*, 2014, 10(2): 755.
- [17] Langenbach F, Handschel J. Effects of dexamethasone, ascorbic acid and  $\beta$ -glycerophosphate on the osteogenic differentiation of stem cells in vitro [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2013, 4(5): 117.
- [18] Song M, Zhao D, Wei S, et al. The effect of electromagnetic fields on the proliferation and the osteogenic or adipogenic differentiation of mesenchymal stem cells modulated by dexamethasone [J]. *Bioelectromagnetics*, 2014, 35(7): 479–490.
- [19] Yuasa M, Yamada T, Taniyama T et al. Dexamethasone enhances osteogenic differentiation of bone marrow- and muscle-derived stromal cells and augments ectopic bone formation induced by bone morphogenetic protein-2 [J]. *PLoS One*, 2015, 10(2): e0116462.
- [20] D'Aniello C, Cermola F, Patriarca EJ, et al. Vitamin C in stem cell biology: impact on extracellular matrix homeostasis and epigenetics [J]. *Stem Cells Int*, 2017, 2017: 8936156.
- [21] 张坤, 牛良晨, 袁福杰, 等. 中药促进骨折愈合在细胞分子水平的研究进展 [J]. *中国骨伤*, 2017, 30(8): 777–782.  
ZHANG K, NIU LC, YUAN FJ, et al. Research on promotory effect of traditional Chinese medicine on fracture healing in cell and molecular level [J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2017, 30(8): 777–782. Chinese with abstract in English.
- [22] 鲍远, 黄俊明, 靖兴志, 等. 淫羊藿苷促进骨髓间充质干细胞成骨分化 [J]. *中国组织工程研究*, 2016, 20(24): 3501–3507.  
BAO Y, HUANG JM, JING XZ, et al. Icaritin promotes osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *Zhongguo Zu Zhi Gong Cheng Yan Jiu*, 2016, 20(24): 3501–3507. Chinese.
- [23] 张洪跃, 周潘宇, 汪洋, 等. 补骨脂素对大鼠骨髓间充质干细胞成骨及成脂分化的影响 [J]. *现代生物医学进展*, 2017, 17(15): 2813–2816.  
ZHANG HY, ZHOU PY, WANG Y, et al. Effects of psoralen on the osteogenesis and adipocyte differentiation of bone mesenchymal stem cells (BM-MSCs) from rats [J]. *Xian Dai Sheng Wu Yi Xue Jin Zhan*, 2017, 17(15): 2813–2816. Chinese.
- [24] 易兵成, 张会兰, 余哲泡, 等. 丝素蛋白溶液诱导成骨分化及其性能评价 [J]. *中国组织工程研究*, 2016, 20(52): 7788–7795.  
YI BC, ZHANG HL, YU ZP, et al. Osteoinductivity and performance of silk fibroin solution [J]. *Zhongguo Zu Zhi Gong Cheng Yan Jiu*, 2016, 20(52): 7788–7795. Chinese.
- [25] Lin K, Xia L, Li H, et al. Enhanced osteoporotic bone regeneration by strontium-substituted calcium silicate bioactive ceramics [J]. *Biomaterials*, 2013, 34(38): 10028–10042.
- [26] Zou J, Yuan C, Wu C, et al. The effects of platelet-rich plasma on the osteogenic induction of bone marrow mesenchymal stem cell [J]. *Connect Tissue Res*, 2014, 55(4): 304–309.
- [27] Niada S, Giannasi C, Ferreira LM, et al. 17 $\beta$ -estradiol differently affects osteogenic differentiation of mesenchymal stem/stromal

- cells from adipose tissue and bone marrow[J]. *Differentiation*, 2016, 92(5):291-297.
- [28] 胡孝丽, 王佳宇, 余和东, 等. 大鼠胎鼠成骨细胞的培养及初步鉴定[J]. *临床口腔医学杂志*, 2016, 32(4):207-210.  
HU XL, WANG JY, YU HD, et al. The cultivation and preliminary identification of osteoblast from rat fetal[J]. *Lin Chuang Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*, 2016, 32(4):207-210. Chinese.
- [29] Tang XK, Cheng W, Xu B, et al. Experimental study on the isolated culture of osteocytes and identification of osteoblasts in rats[J]. *China J Orthop Trauma*, 2013, 26(3):227-231.
- [30] 徐丽丽, 孙晓娟, 郝秀仙, 等. 在复合成分培养基中骨髓间充质干细胞的诱导成骨[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(10):1501-1505.  
XU LL, SUN XJ, HAO XX, et al. Osteogenic induction of human bone marrow mesenchymal stem cells cultured in complex medium[J]. *Zhongguo Zu Zhi Gong Cheng Yan Jiu*, 2015, 19(10):1501-1505. Chinese.
- [31] Bensimon-Brito A, Carreira J, Dionísio G, et al. Revisiting in vivo staining with alizarin red S—a valuable approach to analyse zebrafish skeletal mineralization during development and regeneration[J]. *BMC Dev Biol*, 2016, 16:2.
- [32] Polymeri A, Giannobile WV, Kaigler D. Bone marrow stromal stem cells in tissue engineering and regenerative medicine[J]. *Horm Metab Res*, 2016, 48(11):700-713.
- [33] Rosset P, Deschaseaux F, Layrolle P. Cell therapy for bone repair[J]. *Orthop Traumatol Surg Res*, 2014, 100(1 Suppl):107-112.
- [34] Huang C, Ness VP, Yang X, et al. Spatiotemporal analyses of osteogenesis and angiogenesis via intravital imaging in cranial bone defect repair[J]. *J Bone Miner Res*, 2015, 30(7):1217-1230.
- [35] Osugi M, Katagiri W, Yoshimi R, et al. Conditioned media from mesenchymal stem cells enhanced bone regeneration in rat calvarial bone defects[J]. *Tissue Eng Part A*, 2012, 18(13-14):1479-1489.
- [36] Dogan A, Demirci S, Bayir Y, et al. Boron containing poly-(lactide-co-glycolide) (PLGA) scaffolds for bone tissue engineering[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2014, 44:246-253.
- [37] Wei B, Yao Q, Guo Y, et al. Three-dimensional polycaprolactone-hydroxyapatite scaffolds combined with bone marrow cells for cartilage tissue engineering[J]. *J Biomater Appl*, 2015, 30(2):160-170.
- [38] Castagnini F, Pellegrini C, Perazzo L, et al. Joint sparing treatments in early ankle osteoarthritis: current procedures and future perspectives[J]. *J Exp Orthop*, 2016, 3(1):3.
- [39] Mehrabani D, Mojtahed Jaber F, Zakerinia M, et al. The healing effect of bone marrow-derived stem cells in knee osteoarthritis: a case report[J]. *World J Plast Surg*, 2016, 5(2):168-174.
- [40] Vega A, Martín-Ferrero MA, Del Canto F, et al. Treatment of knee osteoarthritis with allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells: a randomized controlled trial[J]. *Transplantation*, 2015, 99(8):1681-1690.
- [41] Campbell TM, Churchman SM, Gomez A, et al. Mesenchymal stem cell alterations in bone marrow lesions in patients with hip osteoarthritis[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2016, 68(7):1648-1659.
- [42] Fu Q, Tang NN, Zhang Q, et al. Preclinical study of cell therapy for osteonecrosis of the femoral head with allogenic peripheral blood-derived mesenchymal stem cells[J]. *Yonsei Med J*, 2016, 57(4):1006-1015.
- [43] 胡钟旭, 李东卿, 李贵涛, 等. 富血小板血浆联合骨髓间充质干细胞治疗家兔股骨头缺血坏死的研究[J]. *中华损伤与修复杂志(电子版)*, 2014, 9(1):22-26.  
HU ZX, LI DQ, LI GT, et al. Comparative study of treating avascular necrosis of femoral head in rabbits with bone mesenchymal stem cells banding with platelet-rich plasma[J]. *Zhonghua Sun Shang Yu Xiu Fu Za Zhi(Dian Zi Ban)*, 2014, 9(1):22-26. Chinese.
- [44] Mishima H, Sugaya H, Yoshioka T, et al. The safety and efficacy of combined autologous concentrated bone marrow grafting and low-intensity pulsed ultrasound in the treatment of osteonecrosis of the femoral head[J]. *Eur J Orthop Surg Traumatol*, 2016, 26(3):293-298.
- [45] 王连, 侯鹏, 蒋涛, 等. 不同来源间充质干细胞在膝关节软骨修复中的临床研究进展[J]. *中国骨伤*, 2017, 30(6):581-586.  
WANG L, HOU P, JIANG T, et al. Different sources of mesenchymal stem cells for the treatment of cartilage repair in knee joint[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2017, 30(6):581-586. Chinese with abstract in English.
- [46] Li X, Zhang Y, Song B, et al. Experimental application of bone marrow mesenchymal stem cells for the repair of intervertebral disc annulus fibrosus[J]. *Med Sci Moni*, 2016, 22:4426-4430.
- [47] Araki S, Imai S, Ishigaki H, et al. Improved quality of cartilage repair by bone marrow mesenchymal stem cells for treatment of an osteochondral defect in a cynomolgus macaque model[J]. *Acta Orthop*, 2015, 86(1):119-126.
- [48] Liu X, Bao C, Xu HHK, et al. Osteoprotegerin gene-modified BMSCs with hydroxyapatite scaffold for treating critical-sized mandibular defects in ovariectomized osteoporotic rats[J]. *Acta Biomater*, 2016, 42:378-388.
- [49] Hasegawa A, Yonezawa T, Taniguchi N, et al. Role of fibulin 3 in aging-related joint changes and osteoarthritis pathogenesis in human and mouse knee cartilage[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2017, 69(3):576-585.
- [50] 陈凯, 张超, 王路, 等. 骨组织工程中促进血管化策略的研究进展[J]. *中国骨伤*, 2015, 28(4):383-388.  
CHEN K, ZHANG C, WANG L, et al. Progress on strategies to promote vascularization in bone tissue engineering[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2015, 28(4):383-388. Chinese with abstract in English.

(收稿日期:2018-08-01 本文编辑:王宏)

# 《中国骨伤》杂志稿约

《中国骨伤》杂志创刊于1987年,是首届国家期刊奖获奖期刊、中国科技论文统计源期刊、中国科技核心期刊、美国《医学索引》(Index Medicus/MEDLINE/PubMed)等国内外重要数据库收录期刊,设有述评、临床研究、基础研究、骨伤论坛、经验交流、病例报告、手法介绍、综述等栏目。《中国骨伤》杂志采纳和遵循国际医学期刊编辑委员会制定的《生物医学期刊投稿的统一要求》(<http://www.icmje.org>)。

## 1 投稿和论文撰写要求

### 1.1 医学伦理问题及知情同意

为严格遵守赫尔辛基宣言关于伦理学的要求,当文稿的主体是以人为研究对象时,作者应提供单位性、地区性或国家性的伦理委员会的批准文件及受试对象及其亲属的知情同意书。对涉及动物实验研究的文稿,应符合国家及有关部门关于实验动物管理的规定。

### 1.2 临床试验注册和 CONSORT 声明

临床试验研究的文稿要求进行临床试验注册,并提供试验注册机构及注册号。随机对照临床试验的文稿要求按照临床试验报告标准 CONSORT 2010(<http://www.consort.statement.org>)声明中报告清单的项目提供相关资料。涉及中医药和中西医结合的临床研究的方法,建议参照《中国中西医结合杂志》2015年第8期发布的中医药与中西医结合临床研究方法指南。

### 1.3 文题与作者署名

文题力求自明性,反映文章的主题;不使用非公知的外文缩略词和代号;最好不设副标题、不用标点符号;各类文稿一律附英文文题并标出3~5个关键词。作者署名在文题下按序排列,排序应在投稿时确定,在编排过程中不再做更改;要求提供全部作者姓名汉语拼音和全部作者单位全称(包括具体科室、部门)的英译。集体署名的文章必须明确该文的主要责任者(即通讯作者),如需注明协作组成员,则于文末参考文献前列出协作组成员的单位及姓名。

### 1.4 摘要与关键词

临床研究、基础研究、经验交流和综述等文稿要求附500字左右中、英文摘要,摘要应包括目的、方法、结果和结论4个部分;述评、专论、综述等可采用指示性摘要。摘要采用第三人称撰写,不列图、表,不引用文献,不加评论和解释。关键词尽量从美国 NLM 的 MESH 数据库(<http://ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=mesh>)中选取。其中文译名可参照中国医学科学院信息研究所编译的《医学主题词注释字顺表》,未被词表收录的新的专业术语(自由词)可直接作为关键词使用。中医药关键词应从中国中医科学院中医药信息研究所编写的《中医药学主题词表》中选取。

### 1.5 图表

力求少而精,避免与正文重复。每幅图表应冠有中英文对照的图题和表题及相应的注释,并在注释中标明图表中使用的全部非公知公用的缩写。表格使用三横线表(顶线、表头线、底线);表内空白项为未测,“-”为阴性结果;如有合计和统计学内容(值、P值等),则在此行上面加1条分界横线。图片须清晰,层次分明,需说明的地方应按制版要求制作箭头或注字加以解释。图片的高宽比例以5:7为宜。组织切片图要求注明染色方法和放大倍数。实物照片涉及尺寸者,要求与比例尺同时拍照。有肖像照者,必须征得本人同意,并附说明。图表中如有引自他刊者,应注明出处,并征得版权所有者的使用授权。

### 1.6 数字与统计学方法

执行 GB/T 15835-1995《关于出版物上数字用法的规定》。公元、世纪、年、月、日、时刻、计数和计量均用阿拉伯数字。小数点前或后超过3位数字时,每3位数字1组,组间空1/4个汉字空。但序数词和年份、页数、部队番号、仪表型号、标准号不分节。百分数的范围和偏差,前一个数字的百分号不能省略,如5%~20%不要写成5~20%;(70.2±10.6)%不要写成70.2%±10.6%。附带尺寸单位的数值相乘,应写:2 cm×3 cm×5 cm,而不写成2×3×5 cm<sup>3</sup>。统计学符号:根据 GB3358-1982《统计学名词及符号》的有关规定书写,常用如下:①样本的算术平均数用英文小写 $\bar{x}$ (中位数仍用 $M$ );②标准差用英文小写 $s$ ;③标准误用英文小写 $s_x$ ;④ $t$ 检验用英文小写 $t$ ;⑤ $F$ 检验用英文大写 $F$ ;⑥卡方检验用希腊文小写 $\chi^2$ ;⑦相关系数用英文小写 $r$ ;⑧自由度用希腊文小写 $\nu$ ;⑨概率用英文大写 $P$ ( $P$ 值之前应给出具体检验值,如 $t$ 值、 $\chi^2$ 值、 $q$ 值等)。以上符号均用斜体。

### 1.7 参考文献

按 GB/T 7714-2015《信息与文献 文后参考文献著录规则》采用顺序编码著录,依照其在文中出现的先后顺序用阿拉伯数字标出,并将序号置于方括号中,排列于文后。中文参考文献要求用汉英双语著录;用汉语拼音书写的人名,姓全大写,其名缩写,取每个汉字拼音的首字母;刊名用汉语拼音拼写。参考文献中的作者,1~3名全部列出,3名以上只列前3名,后加“等”。外文期刊名称用缩写,以 Index Medicus 中的格式为准。每条参考文献均须著录起止页。①期刊:[序号]作者.题名[J].刊名,年,卷(期);起止页码。②专著:[序号]著者.书名[M].版次.出版地:出版者,出版年;起止页码。③专著中析出文献:[序号]作者.题名[M]//编者.书名.版次.出版地:出版者,出版年;起止页码。

## 2 注意事项

### 2.1 基金项目

来稿所涉及的课题如为国家或部、省省级以上基金或属攻关项目,应在文章首页地脚用中英文以“基金项目”作为标识注明基金项目名称,并在圆括号内注明其项目编号。基金项目名称应按国家有关部门规定的正式名称填写,并附基金项目证明复印件。

### 2.2 论文专有权使用授权

来稿一经接受,由作者亲笔签署论文专有权使用授权书,该论文的著作权及相关财产权即归《中国骨伤》杂志社所有。《中国骨伤》杂志社有权以纸质版、电子期刊、光盘版和网络版等其他方式出版该论文。未经《中国骨伤》杂志社同意,该论文的任何部分不得转载他处。

### 2.3 稿件处理

本刊实行以同行评议为基础的三审制。凡来稿作者在接到本刊回执后3个月内未接到稿件处理通知的,系仍在审阅中。作者如欲投他刊,请先与本刊联系,切勿一稿两投。作者对来稿的真实性和科学性负责。依照《中华人民共和国著作权法》有关规定,本刊对来稿有删改权,凡涉及原意的修改,则提请作者考虑。作者可通过本刊网址 <http://www.zggszz.com> 查询稿件处理结果。

### 2.4 投稿方法

本刊已开通网上远程投稿和审稿系统,不再接受电子信箱和纸质版的投稿。请作者登陆本刊网址(<http://www.zggszz.com>),在首页的左上角进行网上在线投稿,首次投稿须先注册,然后按提示步骤投递稿件。

### 2.5 《中国骨伤》已加入 OSID 开放科学计划

《中国骨伤》杂志从2019年1月起正式加入 OSID(Open Science Identity)开放科学计划。投稿本刊的作者请注册“OSID 作者助手”工具账号,使用工具创建 OSID 二维码。

请选择注册方式(二选一):①电脑注册网址 <https://s.osid.org.cn/3BM7qjA>。②手机微信注册(微信扫一扫)。投稿时请将生成的 OSID 二维码添加到论文中一起投至本刊编辑部。

