

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.20.003

微量元素锶对非酒精性脂肪肝大鼠的防治作用研究

关桥伟,肖业伟,余 广,冯志强,盘强文[△]

(西南医科大学基础医学院,四川泸州 646000)

[摘要] **目的** 探讨微量元素锶对大鼠脂代谢紊乱的改善及非酒精性脂肪肝的防治作用及可能机制。**方法** 将 50 只 SD 大鼠分为 5 组,对照组用普通饲料,其余 4 组用高脂饲料,共喂养 13 周。18 mg/L 锶组和 36 mg/L 锶组在后 9 周分别给予 18 mg/L 与 36 mg/L 的锶水,辛伐他汀组于后 4 周每天给予 10 mg/kg 辛伐他汀灌胃。第 14 周末处死大鼠,检测肝指数、血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)和高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)及肝组织 TG 和 TC 含量,肝组织冰冻切片,油红 O 染色观察脂肪样变及其分布情况。**结果** 与对照组比较,脂肪肝模型组的肝指数、肝 TC、肝 TG、血清 TC、LDL-C 均升高($P < 0.05$);与脂肪肝模型组比较,18 mg/L 锶组大鼠血清 TC、LDL-C、HDL-C 也降低($P < 0.05$);36 mg/L 锶组肝指数、肝 TC、肝 TG、血清 TC、LDL-C 均降低($P < 0.05$)。油红 O 染色结果显示:脂肪肝模型组肝组织含有大量的红染脂肪颗粒;18 mg/L 锶组、36 mg/L 锶组以及辛伐他汀组红染颗粒含量均较脂肪肝模型组有不同程度减少。**结论** 长期较高浓度的微量元素锶摄入具有改善大鼠脂代谢紊乱,防治非酒精性脂肪肝的作用。

[关键词] 锶;非酒精性脂肪肝;辛伐他汀;脂代谢紊乱**[中图分类号]** R575**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2016)20-2744-04

Prevention and treatment effects of trace element strontium on non-alcoholic fatty liver disease in rats

Guan Qiaowei, Xiao Yewei, Yu Guang, Feng Zhiqiang, Pan Qiangwen[△]

(College of Preclinical Medicine, Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of trace element strontium on the improvement of rat lipid metabolism disorder, prevention and treatment effects on non-alcoholic fatty acid liver disease (NAFLD) and its possible mechanism. **Methods** Fifty SD rats were randomly divided into 5 groups. The control group used the common fodder and the other four groups adopted the high fat fodder for 13-week feeding. During the final 9 weeks, the strontium 18 mg/L group and the strontium 36 mg/L group were separately fed with 18 mg/L and 36 mg/L of strontium water. During the final 4 weeks, the simvastatin group was gavaged with simvastatin 10 mg/kg. The rats were killed at the end of 14 weeks and the liver index, serum ALT, AST, TG, TC, LDL-C and HDL-C, and liver TG, TC levels were measured. The liver tissue frozen section was performed. The fatty change and its distribution were observed by oil red O staining. **Results** Compared with the control group, the liver index, liver TG and TC levels, serum TC and LDL-C in the NAFLD model group were statistically increased ($P < 0.05$); compared with the NAFLD model group, the levels of serum TC and LDL-C in the strontium 18 mg/L group were decreased, but serum HDL-C was also decreased ($P < 0.05$); in liver index, liver TC and TG levels, serum TC and LDL-C in the strontium 36 mg/L group were decreased ($P < 0.05$). The oil red O staining showed that the liver tissue in the NAFLD model group contained a large amount of red staining fat particles; but which in the strontium 18 mg/L group, strontium 36 mg/L group and the simvastatin group were decreased to some extents. **Conclusion** The long term high concentration trace element strontium intake has the effect for improving the rat lipid metabolic disorder and preventing and treating NAFLD.

[Key words] strontium; non-alcoholic fatty acid liver disease; simvastatin; disorder of lipid mechanism

随着人们生活水平的提高,肥胖人群的比例在不断增大。超质量人群最常见的疾病是以脂代谢紊乱为主^[1]的非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD),由于NAFLD与糖尿病、动脉粥样硬化及冠心病等密切相关,因此其日益受到基础与临床医学研究者的重视。目前,服用他汀类药物是治疗脂肪肝最有效的手段,但是,已有研究证实他汀有提高2型糖尿病发病率、造成横纹肌溶解及导致皮疹等不良反应。本教研室及合作实验室在前期研究中,观察到饮用高浓度锶(Strontium, Sr)水具有降低动物血脂的作用,并推测锶可能有助于预防和治疗脂肪肝。鉴于此,本文拟通过对NAFLD大鼠模型的观察,以探讨锶在改善脂代谢、防治脂肪肝过程中的具体作用和可能机制,为锶在改善脂代谢紊乱的临床应用提供

实验性理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 健康雄性 Sprague-Dawley 大鼠 50 只, 5~6 周龄, 体质量 120~170 g, 清洁级, 由西南医科大学动物实验中心提供, 动物许可证号: SYXK(川)2013-065。

1.2 仪器与试剂 辛伐他汀(simvastatin, SIMVA)购自湖北广济药业股份有限公司(批号:20140601);氯化锶购自西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司(批号:MKBj8678V);胆固醇购自上海蓝季科技发展有限公司(批号:140103);脱氧胆酸钠购自北京索莱宝科技有限公司(批号:D8160);丙基硫氧嘧啶购自上海蓝季科技发展有限公司(批号:140312);总胆固醇(TC)与三酰甘油(TG)测定试剂盒购自长春汇力生物技术有限公司(批号:

2014043/2014034),油红 O 购自北京索莱宝科技有限公司(批号:313B058);ELX800 酶标仪购自美国伯腾仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 实验分组 健康雄性 SD 大鼠 50 只,适应性饲养 1 周后分为 5 组,每组 10 只。对照组采用基础饲料喂养,从第 10 周开始每天给予 3 mL 生理盐水灌胃;其余 4 组用高脂饲料^[2](基础饲料 77.6%、脱氧胆酸钠 0.2%、丙基硫氧嘧啶 0.2%、胆固醇 2.0%、猪油 10.0%、蛋黄粉 5.0%、蔗糖 5.0%)喂养 13 周。脂肪肝模型组(NAFLD)从第 10 周开始每天 3 mL 生理盐水灌胃;18 mg/L 组(Sr18 组)从第 5 周开始给予 18 mg/L Sr 饮用水,另从第 10 周开始每天加上 3 mL 18 mg/L Sr 水灌胃;36 mg/L 组(Sr36 组)从第 5 周开始给予 36 mg/L Sr 饮用水,另从第 10 周开始每天加上 3 mL 36 mg/L Sr 水灌胃;辛伐他汀组(SIMVA 组)从第 10 周开始每天给予 10 mg/kg 辛伐他汀灌胃。

1.3.2 一般情况观察 实验期间观察并记录各组大鼠每天饲料用量,动物的饮食量、毛发、大小便、行为及整体状况。

1.3.3 标本采集及指标测定 实验第 14 周末全部大鼠禁食 12 h,称体质量后以 2%的戊巴妥钠溶液 1 mL/kg 腹腔注射麻醉后剖腹,腹主动脉取血,分离血清后送西南医科大学附属医院检验科测定血清丙氨酸氨基转移酶(amine aminotransferase,ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase,AST)、三酰甘油(triglyceride,TG)、总胆固醇(total cholesterol,TC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol,LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol,HDL-C);迅速分离取出完整肝脏,称肝湿重以计算肝指数:(肝湿重/体质量)×100%;取相同部位肝右叶组织 500 mg 与氯仿-甲醇混合液(1:1)制备成 10%匀浆液,静置过夜,离心取上清液检测 TG 和 TC 水平(按相应的试剂盒说明书进行);取相同部位肝右叶,OCT 包埋,-80℃冷冻后,作 15 μm 冰冻切片,用油红 O 染色法观察肝组织中脂质沉积情况。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,进行正态性检验及单因素方差分析,组间比较采用 LSD 法,否则采用非参数检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

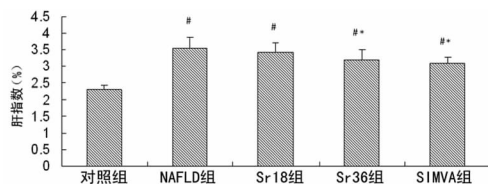
2 结 果

2.1 动物的一般情况 实验期间,对照组大鼠精力充沛,皮毛干净整齐,饮食及大小便正常;NAFLD 组大鼠前几周无明显改变,随着时间的增长,后期逐渐出现精神变差,活动减缓,反应减慢,毛色偏黄,大便较稀等;Sr18 组、Sr36 组及 SIMVA 组大鼠饮食等一系列性状均较 NAFLD 组有不同程度改善。

2.2 肝指数 NAFLD 组、Sr18 组、Sr36 组及 SIMVA 组肝指数均高于对照组($P < 0.05$);Sr36 组及 SIMVA 组肝指数均低

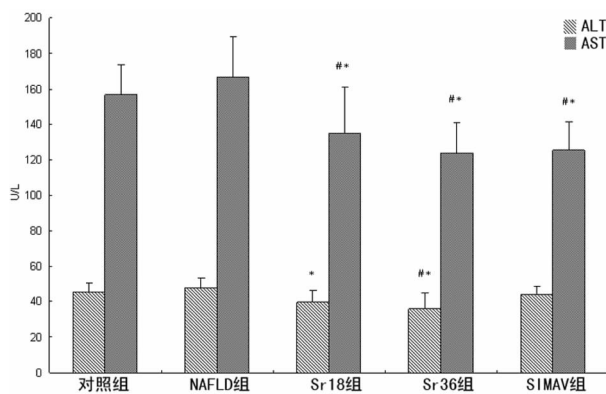
于 NAFLD 组($P < 0.05$),见图 1。

2.3 血清 ALT 及 AST 活性的改变 Sr36 组血清 ALT 水平低于对照组($P < 0.05$),Sr18 组、Sr36 组及 SIMVA 组血清 AST 水平均低于对照组($P < 0.05$);Sr18 组、Sr36 组血清 ALT 水平均低于 NAFLD 组($P < 0.05$),Sr18 组、Sr36 组及 SIMVA 组血清 AST 水平均低于 NAFLD 组($P < 0.05$),见图 2。



: $P < 0.05$,与对照组比较; * : $P < 0.05$,与 NAFLD 组比较。

图 1 肝指数比较



: $P < 0.05$,与对照组比较; * : $P < 0.05$,与 NAFLD 组比较。

图 2 血清 ALT 和血清 AST

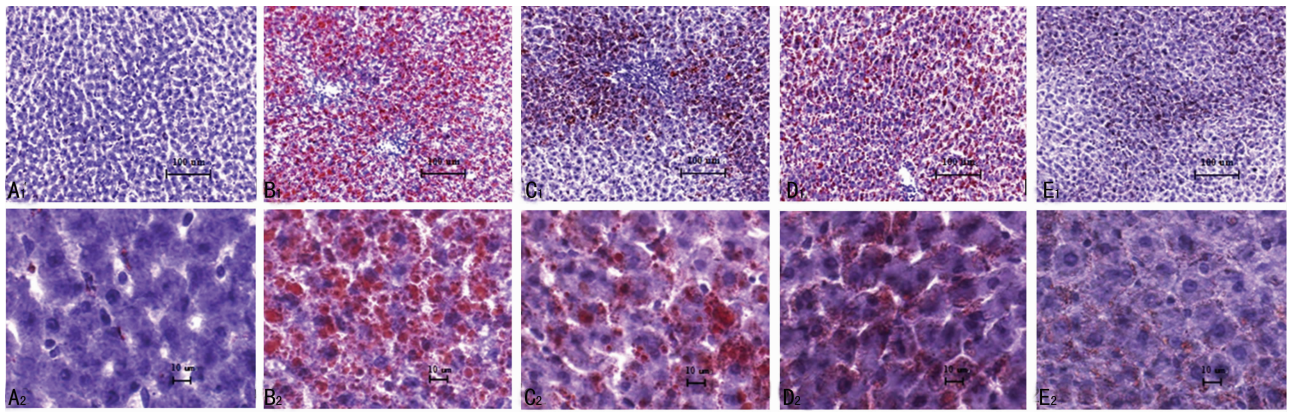
2.4 血清 TC、TG、LDL-C、HDL-C、肝 TC 和肝 TG 的水平变化 NAFLD 组、Sr18 组、Sr36 组及 SIMVA 组血清 TC、LDL-C、HDL-C 水平均高于对照组($P < 0.05$),NAFLD、Sr18、Sr36 组及 SIMVA 组血清 TG 水平均低于对照组($P < 0.05$),NAFLD、Sr18 组肝 TC、TG 水平均高于对照组($P < 0.05$);与 NAFLD 组比较,对照组、Sr18 组和 Sr36 组血清 TC 及血清 LDL-C 水平均低于 NAFLD 组($P < 0.05$),对照组、Sr36 组及 SIMVA 组肝 TC 和肝 TG 水平均低于 NAFLD 组($P < 0.05$),对照组和 Sr18 组血清 HDL-C 水平均低于 NAFLD 组($P < 0.05$,表 1)。

2.5 油红 O 染色结果 油红 O 染色显示对照组肝脏中未见明显红染颗粒,结构正常,肝细胞排列整齐;NAFLD 组肝脏有肝细胞脂肪变性,体积增大,含有大量的红染颗粒,细胞核被推向周边,脂质沉积明显增多,结构被破坏,肝细胞排列紊乱;Sr18、Sr36 组及 SIMVA 组肝细胞的结构,排列,红染颗粒含量等改变较 NAFLD 组有不同程度改善,见图 1。

表 1 血清 TC、TG、LDL-C、HDL-C 和肝 TC、TG 含量($\bar{x} \pm s$,mmol/L)

组别	n	血清 TC	血清 TG	血清 LDL-C	血清 HDL-C	肝匀浆 TC	肝匀浆 TG
对照组	10	1.58±0.14	0.85±0.08	0.26±0.04	1.13±0.08	4.20±0.88	2.22±0.19
NAFLD 组	10	4.47±0.69 [#]	0.32±0.18 [#]	1.25±0.26 [#]	2.37±0.4 [#]	5.96±0.77 [#]	3.07±0.27 [#]
Sr18 组	10	3.52±1.11 ^{#*}	0.29±0.08 [#]	0.94±0.28 ^{#*}	1.87±0.47 ^{#*}	5.42±0.45 [#]	2.67±0.48 [#]
Sr36 组	10	3.41±0.71 ^{#*}	0.20±0.06 ^{#*}	0.74±0.19 ^{#*}	2.06±0.35 [#]	5.01±0.56 [*]	2.56±0.37 [*]
SIMVA 组	10	4.40±0.96 [#]	0.19±0.03 ^{#*}	1.23±0.43	2.33±0.35 [#]	4.94±0.85 [*]	2.31±0.38 [*]

: $P < 0.05$,与对照组比较; * : $P < 0.05$,与 NAFLD 组比较。



红色颗粒:油红 O 示脂肪滴沉积;A₁、A₂:对照组(×100、×400);B₁、B₂:NAFLD 组(×100、×400);C₁、C₂:NAFLD 组(×100、×400);D₁、D₂:NAFLD 组(×100、×400);E₁、E₂:NAFLD 组(×100、×400);

图 3 肝组织脂肪沉积(油红 O 染色)及形态学改变

3 讨论

NAFLD 的动物模型制备方法很多,本文以微调后的高脂配方饲料^[2]喂养 SD 大鼠以制备 NAFLD 动物模型,预示实验观察到第 9 周末动物肝脏呈轻、中度脂肪样变。本实验观察到 NAFLD 模型组大鼠血清 TC 及 LDL-C 水平升高,肝指数、肝 TC 和 TG 均升高,油红 O 染色肝组织中出现大量红染的脂肪滴,由此证实大鼠非酒精性脂肪肝模型复制成功,但本实验所得 NAFLD 模型的血清 TG 水平并未升高,反而 HDL-C 水平升高,这与常见的 NAFLD 患者的血清学改变并不一致,可能与饲料的配方有关,其具体机制有待进一步研究。

NAFLD 的发病机制非常复杂,目前的治疗方式主要有:改善膳食结构;适当增加运动,控制体质量;改正不良生活习惯及适当的药物治疗等。当今临床治疗脂肪肝使用广泛且最有效的药物是他汀类,其作用机制为抑制羟甲戊二酰辅酶 A 还原酶活性,阻断胆固醇合成,同时促进 LDL-C 的降解^[3]。本实验观察到 SIMVA 组肝 TC、TG 均降低,ORO 结果显示肝脏中见少量红染颗粒,可见辛伐他汀对 NAFLD 的疗效非常明确,与文献报道基本一致,这也进一步证实了本实验的方法和结果的真实可靠。但是,已有研究证实他汀类药物具有提高 2 型糖尿病发病率^[4]、引起横纹肌溶解及导致皮疹等不良反应^[5-6]。鉴于此,寻找更安全、经济、有效且更易被患者接受的 NAFLD 防治方式是非常有必要的。

锶是人体必需的 14 种微量元素之一,有研究指出饮用一定量的锶水对人体有益^[7]。但是,我国淡水资源中锶含量较低,平时摄入的锶往往满足不了生理需要^[8],因此考虑将锶作为食品和饮料的添加剂是有必要且可行的。目前,锶在临床上的应用及研究主要集中于骨转移瘤和骨质疏松的治疗^[9-11]。本教研室及合作实验室在前期研究中,观察到饮用高浓度锶水有降低动物血脂的作用。李牧等^[12]指出锶可延缓动脉粥样硬化斑块的形成,在一定范围内随着锶浓度升高,作用越好,其机制与改善脂代谢有关。万英等^[13]研究指出 2~8 mg/L 含锶矿泉水饮用 6 个月对正常大鼠血清中 ALT、AST、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、TG 和 TC 无不良影响。汪澍等^[14]观察到锶矿泉水可以降低 2 型糖尿病大鼠的 TC 与 TG 水平,且联合格列美脲疗效更好,因此推测锶可能具有延缓 2 型糖尿病发展的作用。但是,锶是否具有预防和治疗非酒精性脂肪肝的作用及其作用机制国内外未见报道。

本实验所用锶的剂量处于大鼠的安全剂量内,远小于大鼠的中毒剂量。结果显示:18 mg/L 锶组虽然大鼠血清 TC、LDL-C 降低,但是血清 HDL-C 也降低;36 mg/L 锶组肝指数、肝 TC、肝 TG、血清 TC、LDL-C 均降低。可见,长期较高浓度的锶摄入可以有效地减轻 NAFLD,改善肝脏脂代谢紊乱,其疗效接近辛伐他汀。但是,锶可以作为食品 and (或) 饮料的添加剂而不是药物,因此其可能会成为一种更安全、更经济、有效且更易被患者接受的 NAFLD 的防治方式。

锶又是如何改善脂代谢紊乱减轻 NAFLD 的呢? 目前认为关于脂质代谢的机制有以下几种可能。(1)胆固醇代谢:既可通过甲羟戊酸途径,以乙酰 CoA 等原料合成内源性胆固醇,又可通过低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDLr)内吞摄入外源性胆固醇。其合成调控主要有:①固醇调节元件(sterol regulatory element binding protein, SREBPs)与裂解激活蛋白(Sterol regulatory element binding protein cleavage activator protein, SCAP)形成 SCAP-SREBP 复合物,通过 SREBP 通路抑制合成胆固醇基因的表达^[15];②通过羟甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶蛋白降解通路,进而减少胆固醇的合成^[16]。胆固醇的降解则主要是通过三磷酸腺苷途径。(2)三酰甘油代谢。合成途径:①甘油一酯与脂酰 CoA 在脂酰转移酶作用下,生成三酰甘油。②糖酵解的中产物,类磷酸二羟丙酮和游离甘油分别在甘油磷酸脱氢酶和甘油激酶的催化下,生成 3-磷酸甘油,进而与脂酰 CoA 作用生成三酰甘油的前体-磷脂酸,再进一步合成三酰甘油。三酰甘油的主要分解途径是在三酰甘油脂肪酶、激素敏感酶、环磷酸腺苷依赖蛋白激酶等的作用下,三酰甘油逐步分解为甘油和脂肪酸。本实验的结果显示,较高浓度的锶摄入可以显著降低血清和肝的胆固醇水平,由此推测微量元素锶可能具有促进三磷酸腺苷途径以加速胆固醇的降解,或者作用于 SREBP 通路和/或羟甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶蛋白降解通路以抑制胆固醇合成、降低肝内胆固醇水平,同时促进 LDLr 内吞以降低血清胆固醇水平的作用。本实验同时也观察到较高浓度的锶摄入虽可降低肝内三酰甘油水平,但对血清三酰甘油的影响却很小,这也许与锶的调节位点或锶的用量大小有关。至于锶改善脂代谢紊乱的具体作用机制,尤其是其对脂代谢调节过程中的关键生物信号分子的影响,则有待进一步的研究。

参考文献

- [1] 余艺,傅晓英,周昭远,等. 脂肪肝及其腹围与代谢综合征的相关性研究[J]. 海南医学,2011,22(18):13-16.
- [2] 张亚辉,周伏喜,卢放根. 大黄素对大鼠非酒精性脂肪肝及其糖脂代谢紊乱的防治作用[J]. 海南医学,2013,24(5):636-638.
- [3] 蔡佳,贺娟,徐贵丽. 他汀类药物的临床应用研究进展[J]. 中国医院用药评价与分析,2015,15(2):281-283.
- [4] 王婧,赵泉. 他汀类药物用于糖尿病治疗的研究进展[J]. 中国医院用药评价与分析,2015,15(2):145-147.
- [5] 张艳敏. 辛伐他汀的不良反应报告[J]. 中国药物经济学,2013(S1):401-402.
- [6] 李敏. 辛伐他汀的不良反应及药物相互作用分析[J]. 中国现代药物应用,2014,8(17):93-94.
- [7] 刘菲,徐源廷,任大伟,等. 掺银聚磷酸钙对成骨细胞分泌血管内皮生长因子的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2009,13(47):9269-9272.
- [8] 秦俊法,潘伟清. 饮用天然矿泉水的锶限量指标[J]. 广东微量元素科学,2001,11(1):16-23.
- [9] 殷健. 锶治疗前列腺癌、乳腺癌、肺癌骨转移的临床疗效[J]. 吉林医学,2013,34(25):5178-5179.
- [10] Pemmer B, Hofstaetter JG, Meirer F, et al. Increased strontium uptake in trabecular bone of ovariectomized calcium-deficient rats treated with Strontium ranelate or Strontium chloride[J]. J Synchrotron Radiat,2011,18(Pt 6):835-841.
- [11] 蔡波,张建军. 氯化锶治疗骨质疏松症的疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志,2014,23(31):3464-3465.
- [12] 李牧,杨佳琳,杨庭树,等. 微量元素锶对实验性兔动脉粥样硬化斑块形成的影响[J]. 中国医药导报,2012,9(12):17-19.
- [13] 万英,陈蓉,冯志强,等. 富锶矿泉水对大鼠血清生化指标的影响[J]. 中国食品卫生杂志,2014,26(2):133-136.
- [14] 汪澍,弓慧杰,李著华. 锶矿泉水联合格列美脲对 2 型糖尿病大鼠血脂的影响[J]. 黑龙江医学,2013,37(1):4-8.
- [15] Shimano H, Shimomura I, Hammer RE, et al. Elevated levels of SREBP-2 and cholesterol synthesis in livers of mice homozygous for a targeted disruption of the SREBP-1 gene[J]. J Clin Invest, 1997, 100(8):2115-2124.
- [16] 柳童斐,宋保亮. 胆固醇合成途径的负反馈调控机制[J]. 中国细胞生物学报,2013,35(4):401-409.
- (收稿日期:2015-12-18 修回日期:2016-03-02)
-
- (上接第 2743 页)
- in bone regeneration[J]. Biomed Mater, 2008, 3(1):15003.
- [2] Wang L, Tran I, Seshareddy K, et al. A comparison of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells and human umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells for cartilage tissue engineering[J]. Tissue Eng Part A, 2009, 15(8):2259-2266.
- [3] 隋杰,李志忠,孙国栋,等. 聚左旋乳酸多孔支架材料复合人脐带间充质干细胞的异位成骨[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2011,15(12):2120-2124.
- [4] Bian YZ, Wang Y, Aibaidoula G, et al. Evaluation of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) conduits for peripheral nerve regeneration[J]. Biomaterials, 2009, 30(2):217-225.
- [5] Ye C, Li J, He Z, et al. Multilineage differentiation of muscle-derived stem cells from GFP transgenic mice[J]. Biotechnol Lett, 2010, 32(11):1745-1752.
- [6] Xiong YC, Yao YC, Zhan XY, et al. Application of polyhydroxyalkanoates nanoparticles as intracellular sustained drug-release vectors[J]. J Biomater Sci Polym Ed, 2010, 21(1):127-140.
- [7] Ye C, Hu P, Ma MX, et al. PHB/PHBHHx scaffolds and human adipose-derived stem cells for cartilage tissue engineering[J]. Biomaterials, 2009, 30(26):4401-4406.
- [8] 徐燕,李长虹,孟恒星,等. 人脐带间充质干细胞分离培养条件的优化及其生物学特性[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2009,13(32):6289-6294.
- [9] Jacobs T, Morent R, De Geyter N, et al. Plasma surface modification of biomedical polymers; influence on cell-material interaction[J]. Plas Chem Plas Proc, 2012, 32(5):1039-1073.
- [10] Mirmohammadi SA, Khorasani MT, Mirzadeh H, et al. Investigation of plasma treatment on poly(3-hydroxybutyrate) film surface: characterization and invitro assay[J]. Polym Plast Technol Eng, 2012, 51(13):1319-1326.
- [11] 章文苑,律娅婧. 纳米羟基磷灰石/I 型胶原/壳聚糖复合支架材料的制备与优化[J]. 生物骨科材料与临床研究, 2011, 8(3):1-4.
- [12] Perrier E, Ronzière MC, Bareille R, et al. Analysis of collagen expression during chondrogenic induction of human bone marrow mesenchymal stem cells[J]. Biotechnol Lett, 2011, 33(10):2091-2101.
- [13] Mahnoudifar N, Doran PM. Chondrogenesis and cartilage tissue engineering the longer road to technology development[J]. Trends Biotechnol, 2012, 30(3):166-176.
- [14] 张清林,吕惠成,吴一民. 转化生长因子 $\beta 1$ 联合骨形态发生蛋白 2 诱导骨髓间充质干细胞体外向软骨细胞的分化[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(24):4371-4375.
- [15] Park JS, Yang HN, Woo DG, et al. The promotion of chondrogenesis, osteogenesis, and adipogenesis of human mesenchymal stem cells by multiple growth factors incorporated into nanosphere-coated microspheres[J]. Biomaterials, 2011, 32(1):28-38.
- (收稿日期:2015-12-08 修回日期:2016-02-26)