

· 基础研究 ·

低频电磁场对两种不同支架培养的表皮干细胞增殖的影响

白文芳 张鸣生 吴博 李新平 白利明 朱洪翔

【摘要】目的 观察低频电磁场(LFEMF)对三维环境中培养的人表皮干细胞(ESCs)增殖的影响,为 LFEMF 用于皮肤组织工程提供实验依据。**方法** 取人包皮来源的 ESCs 作为种子细胞,利用 IV 型胶原快速贴壁法体外分离纯化 ESCs,并种植于胶原海绵和壳聚糖支架材料,外加 LFEMF 治疗仪(场强 5 mT,频率分别为 1 Hz、10 Hz 和 50 Hz)刺激 ESCs(30 min/d),用四甲基偶氮唑盐微量酶反应比色法(MTT)检测支架材料细胞毒性,通过肉眼、HE 染色后 DAPI 荧光核染色后镜下观察及扫描电镜观察 ESCs 生长情况,并收集培养 2, 7, 10, 14 d ESCs 的 DAPI 核荧光染色数据,用显微图像软件分析细胞增殖数目,比较各时间点细胞增殖的区别。**结果** LFEMF 促进 ESCs 增殖的作用在不同频率组间的差异和两种支架上培养的 ESCs 增殖情况的差异均有统计学意义($P < 0.01$),10 d 后胶原海绵支架上细胞增殖较壳聚糖支架上的细胞明显($P < 0.05$),各频率组 LFEMF 刺激均能促进 ESCs 增殖,频率不同,促增殖的效应不一($P < 0.05$)。**结论** 胶原海绵可较好地作为体外培养 ESCs 的支架,在 LFEMF 干预下可实现 ESCs 体外三维环境中较快扩增,LFEMF 在皮肤组织工程中具有较大应用潜力。

【关键词】 低频电磁场;表皮干细胞;增殖;胶原海绵支架;壳聚糖支架

The effects of low frequency electromagnetic fields on the proliferation of epidermal stem cells cultured on two different scaffolds BAI Wen-fang, ZHANG Ming-sheng, WU Bo, LI Xin-ping, BAI Li-ming, ZHU Hong-xiang, Institute of Geriatric Medicine, Guangdong General Hospital, Guangdong Academy of Medical Sciences, Guangzhou 510080, China

Corresponding author: ZHANG Ming-sheng, Email: mszrch@163.com

【Abstract】Objective To observe the effects of low frequency electromagnetic fields (LFEMFs) on the proliferation of human epidermal stem cells (hESCs) cultured in a three dimensional environment so as to provide an experimental basis for applying LFEMF in skin tissue engineering. **Methods** hESCs from human prepuces were isolated and purified by the method of rapid adherence to collagen type IV. They were grafted into a type-I collagen sponge or chitosan scaffold in vitro, and then stimulated with different frequencies of LFEMF (1 Hz, 10 Hz or 50 Hz) at a magnetic field intensity of 5 mT for 30 min/d. The cells' growth and proliferation were tracked using hematoxylin and eosin (HE) and diamine phenyl indole (DAPI) staining and observed under the scanning electron microscope at different time points (on 2nd, 7th, 10th and 14th days of LFEMF intervention). The amounts of cell proliferation at every time point were analyzed and compared. **Results** LFEMFs of different frequencies showed significantly different efficacy in promoting hESC proliferation. The two scaffolds also showed significantly different effects. By the 10th day, hESCs had grown significantly better on collagen sponge scaffolds than on the chitosan ones. All LFEMF frequencies could promote proliferation of hESCs, but the differences in their effects were statistically significant. **Conclusion** Collagen sponge may be a preferable scaffold for hESCs cultured in vitro. Rapid proliferation of ESCs in three-dimensional settings can be promoted by LFEMF intervention. LFEMF has relatively great potential in skin tissue engineering.

【Key words】 Low frequency electromagnetic fields; Epidermal stem cells; Proliferation; Collagen sponge scaffolds; Chitosan scaffolds; Tissue engineering

自 1975 年 Rheinwald 等建立了表皮细胞体外培

养技术以来,国内外涌现出许多关于支架材料的相关报道^[1-4]。目前用于构建组织工程的支架材料主要有天然成份(如胶原、明胶、基质蛋白、甲壳素及其衍生物等)和合成高分子材料(如共聚乙交酯-丙交酯、尼龙网等)。这种支架材料需要满足以下几个方面的要求^[5]:①合适的表面化学性能以利于细胞黏

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2011.07.004

基金项目:广东省自然科学基金(9151008901000199)

作者单位:510080 广州,广东省人民医院(广东省医学科学院)老年医学研究所

通信作者:张鸣生,Email:mszrch@163.com

附、分化及增生;②适当的降解率,无害的降解产物;③无细胞毒性;④足够的机械强度;⑤最小的免疫及炎症反应;⑥生产、纯化及加工的简单性;⑦满足组织的连接及血管化的孔洞。优良的细胞培养支架可提供更为贴近真人皮肤的体外三维研究模型,有助于对低频电磁场(low frequency electromagnetic field, LFEMF)可能促进表皮干细胞增殖分化及诱导有关的机制进行更深入的研究,为 LFEMF 用于人工皮肤组织工程治疗创面提供更有价值的实验数据。根据以上要求,本研究选用胶原海绵和壳聚糖作为支架材料,将人表皮干细胞(epidermal stem cells, ESCs)分别种植在胶原海绵和壳聚糖三维支架上,通过外加 LFEMF 干预,探讨 LFEMF 对体外三维环境培养的人 ESCs 增殖的影响,为 LFEMF 用于皮肤组织工程提供实验依据。

材料与方法

一、制备胶原海绵支架

将牛 I 型胶原海绵(广州创尔公司)剪成面积约 4 cm^2 的大小片状平铺于培养皿,经过 0.01% 戊二醛交联,磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)反复冲洗 3 d 后,用 ^{60}Co (华南农业大学辐照中心)消毒处理备用,见图 1。

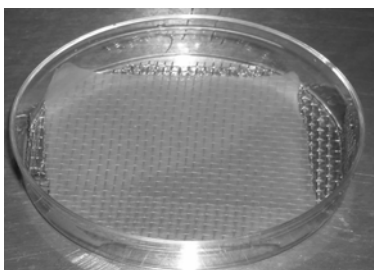


图 1 制备好的胶原海绵支架

二、壳聚糖支架的准备

壳聚糖支架由华南理工大学材料系制作(图 2),孔隙率 $>80\%$,经无水乙醇浸泡 1 h 紫外线灯正反面各照射 2 h 消毒,使用前支架均经培养液浸泡过夜。



图 2 制备好的壳聚糖支架

三、ESCs 的纯化培养和鉴定

取无菌条件下包皮环切术切除的健康青年人包皮,用 0.25% 的中性蛋白酶溶液分离出表皮,再用 0.25% 的胰酶 + 0.02% 乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)把表皮细胞消化下来,用 VI 胶原快速贴壁法分选 ESCs,多次传代分选达到纯化,在倒置相差显微镜下观察细胞的形态变化和生长情况,进行 $\beta 1$ 整合素和 K19 免疫组化染色鉴定^[6-7]。

四、ESCs 种植培养方法

将灭菌备用的支架剪成 1 cm^2 平置于 24 孔板中,用 PBS 液冲洗 3 次,每次 5 min,加入 K-SFM(keratinocyte serum free medium)培养液(美国 Gibco 公司)浸泡过夜,参照人工皮肤体外气-液界面培养方法制备模型及培养^[8]。将已制备好的第 3 代 ESCs(悬液浓度为 $1 \times 10^5/\text{ml}$)以最小体积($100\text{ }\mu\text{l}$)按点滴法以小水滴状接种于支架材料上,每滴之间有一定间隔,置于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 细胞培养箱中静置吸附 1~2 h 后,加入 0.3 ml K-SFM 培养液,12 h 后加入足量的培养液继续培养。培养 3 d 后,行气-液界面继续培养,每 12 h 半量换液。

五、四甲基偶氮唑盐微量酶反应比色法

取生长状态良好的第 3 代 ESCs 悬液 1×10^5 个/ml $100\text{ }\mu\text{l}$,接种于 3 块标准的 96 孔板内,置于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 细胞培养箱培养,隔日换液,每块板中设有空白对照组,其 ESCs 的培养基为新鲜培养液,实验组 ESCs 分为用浸泡胶原海绵支架 12 h 后的培养基培养组和用浸泡壳聚糖支架 12 h 后的培养基培养组。分别于换液后第 24 小时、48 小时和 72 小时,每孔加入 20 μl MTT 溶液(5 mg/ml),4 h 后吸出液体,每孔加入 150 μl 二甲亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO),混匀后置摇床 5~10 min,酶标仪测定每孔吸光度光密度(optical density, OD)值(490 nm)。

六、LFEMF 干预方法

已接种了 ESCs 的支架接受 LFEMF 辐射,根据不同的刺激频率分为 1 Hz、10 Hz 和 50 Hz 组。将各组置于不同频率 LFEMF 的线圈中,两线圈呈对偶式,间距 10 cm。通过引线将线圈置于培养箱中,设定场强为 5 mT,作用时间为 30 min/d,连续 14 d。同时设立不加 LFEMF 的空白对照组,亦置于同等条件下培养。

七、HE 染色和 DAPI 核荧光染色镜后下观察

取不同频率 LFEMF 干预 2, 7, 10, 14 d 的 ESCs-生物支架材料复合物,通过镜下观察、石蜡包埋切片 HE 染色和 DAPI 核荧光染色观察细胞生长情况和比较不同支架上细胞增殖水平,每个实验组随机选取 4 个视野对 DAPI 核荧光染色结果进行显微镜拍照,用 Micro-Cosmos MiVnt 显微图像软件分析细胞数,比较之间的统计学差异。

八、扫描电镜

ESCs-支架材料复合物用 2.5% 戊二醛溶液在 4℃ 冰箱固定 1 h, 用二甲砷酸钠盐缓冲液 (pH = 7.2) 冲洗后经过梯度乙醇脱水, 最后样本在 100% 乙醇中放置 15 min, 用 CO₂ 干燥。标本用铝包埋后再涂一层纯度达 99% 的金, 然后用扫描电镜观察 (暨南大学)。

九、统计学分析

所得数据应用 SPSS 13.0 版统计软件, 采用析因设计方差分析对数据进行统计学处理, 所有数据均以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 选用 Student-Newman-Keul 法进行多个样本均数间两两比较, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、免疫细胞化学染色

ESCs 免疫标志物 $\beta 1$ 整合素和 K19 免疫细胞化学染色结果分别示细胞膜和细胞浆呈棕黄色的强阳性表达, 见图 3~4。



图 3 ESCs 免疫标志物 $\beta 1$ 整合素 (免疫组化染色, $\times 200$)

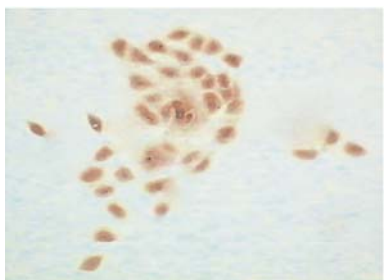


图 4 ESCs 免疫标志物 K19 (免疫组化染色, $\times 200$)

二、支架细胞毒性检测

随着培养时间的延长, 每组细胞数量不断增加, 用浸泡胶原海绵支架的培养液和用浸泡过壳聚糖的培养液培养 ESCs, ESCs 生长良好, MTT 法检测结果显示, 实验组各时相点 OD 值与对照组差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 5。

三、ESCs-支架材料大体观察

胶原海绵支架呈柔软膜状、透光性好、色白微黄, 厚度约 2 mm, 倒置显微镜下见胶原海绵膜周边及网孔中 2 d 后细胞开始黏附生长, 培养约 14 d 后可见网孔

被细胞及其所分泌的基质填充 (图 6)。而壳聚糖支架色白质较脆、透光性较差、厚度约 2 mm, 倒置显微镜下见支架周边有细胞贴壁, 2 d 后细胞开始增殖。

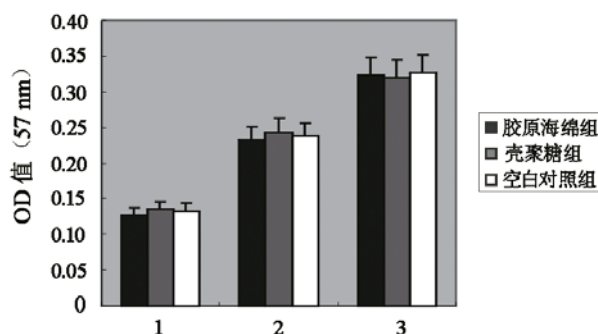


图 5 2 种支架对 ESCs 的毒性实验结果

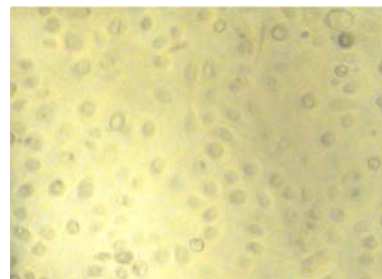


图 6 50 Hz 组 14 d ESCs-胶原海绵生长情况

四、ESCs-支架材料 HE 染色

在胶原海绵和壳聚糖支架上 ESCs 生长情况同样为 2 d 后细胞开始黏附生长, 14 d 后各实验组均较空白对照组增殖显著 (图 7~8)。

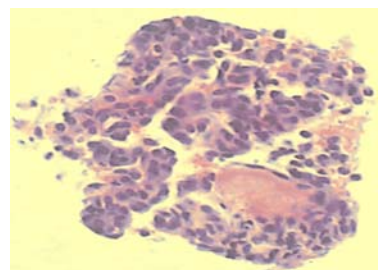


图 7 50 Hz 组 14 d ESCs-胶原海绵生长情况 (HE 染色, $\times 400$)

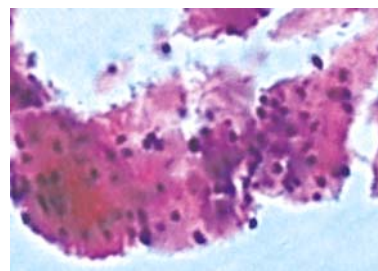


图 8 50 Hz 组 14 d ESCs-壳聚糖生长情况 (HE 染色, $\times 400$)

五、DAPI 核荧光染色

在荧光显微镜下观察 DAPI 染色的 ESCs, 可见细胞核呈蓝色; 培养 2 d 后, 各组 ESCs 在胶原海绵和壳聚糖支架上黏附生长; 培养 7 d 后, 各组细胞在胶原海绵上生长良好, 其中 50 Hz 组生长较快; 培养 14 d 后, 空白对照组 ESCs 在胶原海绵支架上呈散在团样生长, 10 Hz、50 Hz 组 ESCs 已在胶原海绵支架上融合呈片状生长(图 9); 培养 14 d 后, 空白对照组 ESCs 在壳聚糖绵支架上部分呈散在小团样生长, 1 Hz 组和 10 Hz 组呈散在团样生长, 50 Hz 组 ESCs 在壳聚糖支架上开始融合, 呈片状生长(图 10)。

六、ESCs-支架材料扫描电镜观察

胶原海绵支架的孔隙率大约 85%, 孔径约 80 ~ 240 nm, 培养 2 d 后, ESCs 开始在胶原海绵支架上黏附生长, 生长状态良好, 50 Hz 组 14 d 后 ESCs 在胶原海绵支架上融合成片(图 11); 壳聚糖支架的孔隙率大约 80%, 孔径约 50 ~ 100 nm, 50 Hz 组 14 d 后 ESCs 在壳聚糖支架上部分融合成片(图 12)。

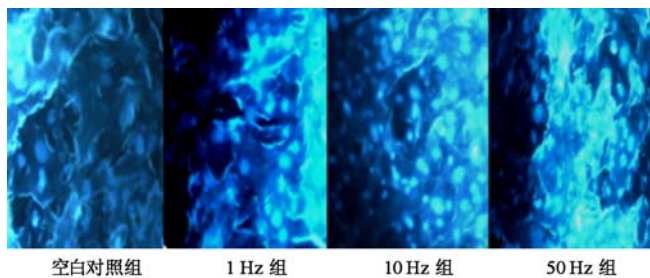


图 9 14 d ESCs-胶原海绵(DAPI 核荧光染色, $\times 200$)

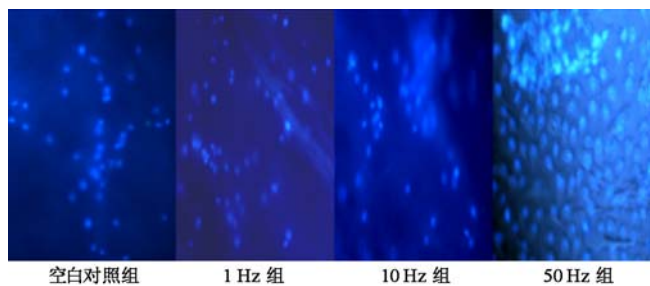


图 10 14 d ESCs-壳聚糖(DAPI 核荧光染色, $\times 200$)

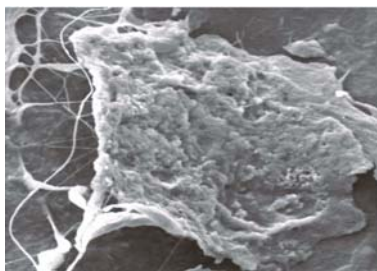


图 11 50 Hz 组 14 d ESCs-胶原海绵

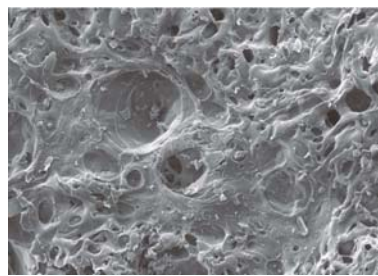
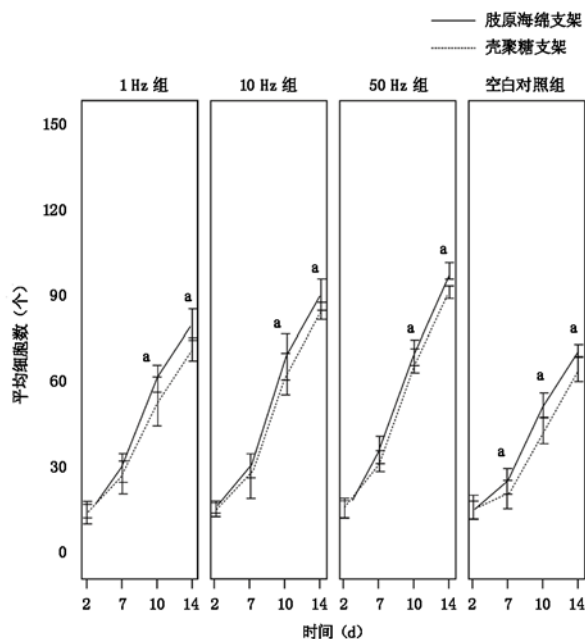


图 12 50 Hz 组 14 d ESCs-壳聚糖

七、支架上培养的 ESCs 增殖情况

显微图像软件分析各时间点不同频率组胶原海绵支架和壳聚糖支架上培养的 ESCs 平均细胞数, 用 S-N-K 法多个均数间两两比较(表 1 和图 13), 培养 7 d 后, 50 Hz 组 LFEMF 促增殖效应在胶原海绵和壳聚糖 2 种支架上开始显现, 与其他各组比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 2 种支架空白对照组间细胞数差异有统计学意义($P < 0.05$); 培养 10 d 和 14 d 后, 与空白对照组细胞数相比, 胶原海绵支架各组的细胞数差异均有统计学意义($P < 0.05$), 其中, 10 Hz 组、50 Hz 组较 1 Hz 组增殖快($P < 0.05$), 培养 14 d 后, 50 Hz 组细胞增殖情况与胶原海绵支架其他组比较差异有统计学意义($P < 0.05$); 培养 10 d 和 14 d 后, 与壳聚糖支架各组 ESCs 生长情况比较, 胶原海绵支架各组的差异均有统计学意义($P < 0.05$)。培养 10 d 和 14 d 后, 壳聚糖支架 10 Hz 组和 50 Hz 组比壳聚糖支架 1 Hz 组



注: 同时间点两种支架材料比较, $^a P < 0.05$

图 13 不同频率组壳聚糖支架和胶原海绵支架培养的 ESCs 的细胞数

表 1 不同频率组胶原海绵和壳聚糖支架培养的 ESCs 的细胞数(个, $\bar{x} \pm s$)

组 别	胶原海绵支架				壳聚糖支架			
	2 d	7 d	10 d	14 d	2 d	7 d	10 d	14 d
1 Hz 组	14.7 ± 2.5	30.3 ± 3.1	61.8 ± 3.0 ^a	80.5 ± 3.4 ^a	15.0 ± 1.4	27.0 ± 3.6	53.5 ± 5.5	71.8 ± 2.6
10 Hz 组	16.5 ± 1.3	31.0 ± 2.6	69.0 ± 5.0 ^a	91.0 ± 3.4 ^a	15.8 ± 1.7	27.5 ± 4.9	63.3 ± 4.7 ^a	85.3 ± 1.7 ^a
50 Hz 组	15.8 ± 1.7	36.3 ± 3.1 ^a	70.8 ± 2.8 ^a	99.0 ± 1.8 ^a	16.5 ± 0.8	32.5 ± 2.4 ^a	67.8 ± 2.6 ^a	91.8 ± 1.3 ^a
空白对照组	16.3 ± 2.6	25.5 ± 2.7	52.3 ± 2.6	71.5 ± 1.3	15.8 ± 2.2	21.0 ± 2.9	43.3 ± 2.8	64.8 ± 2.6

注:与同时时间点空白对照组比较, ^a $P < 0.05$

和空白对照相比增殖快($P < 0.05$),第 10 天,50 Hz 组较壳聚糖支架其他各组增殖快,差异有统计学意义($P < 0.05$),第 14 天,壳聚糖支架 10 Hz 组与 50 Hz 组之间差异无统计学差异($P > 0.05$)。

讨 论

本研究探讨了 LFEMF 对支架材料上培养的 ESCs 增殖的影响,经析因设计的方差分析显示,LFEMF 促进 ESCs 增殖的作用在不同频率和不同时间的主效应差异均都有统计学意义($P < 0.01$),说明随着培养时间的延长和频率不同,LFEMF 促进 2 种支架上培养的 ESCs 增殖的效应不一。2 种支架上培养的 ESCs 增殖情况的差异有统计学意义($P < 0.01$),说明 2 种支架上培养的 ESCs 增殖情况存在差别。2 种支架上 1 Hz 组和 10 Hz 组与空白对照组相比,在第 10 天显现出促进 ESCs 增殖的效应,但较 50 Hz 组弱,50 Hz 频率组在第 7 天开始显现促进细胞增殖的效应,到 14 d 时其作用最显著,但 2 种支架上细胞生长情况无明显差异。不同频率 LFEMF 对促进 ESCs 增殖的结果说明脉冲电磁场对 ESCs 的作用具有“生物窗”和“频率窗”效应,即某一特定频率、特定强度范围的脉冲电磁场对某一特定的细胞起较强的作用,这也反映在其他国内外文献的研究报道中^[9]。目前很多学者对 LFEMF 用于骨髓间充质干细胞和多能胚胎干细胞等有较多研究^[10-11],而用于 ESCs 的研究较少^[1,12]。

目前,组织工程化皮肤的核心是建立由细胞和生物材料构成的三维空间复合体,先在体外培养高浓度的 ESCs,然后接种在由细胞外基质构成的三维支架上,使 ESCs 继续增殖,达到移植修复创面的目的。胶原作为一种重要的生物可降解支架材料具有较大的优越性^[13-14],其原因:①它作为细胞外基质的主要成分之一,来源广泛,且不同种属间胶原的抗原性较弱,不引起明显炎症反应及排斥、异物反应^[15];②纯制的异种胶原分子中(主要指原胶原分子非螺旋结构的末端)含有少量抗原决定簇,抗原性很弱,即使产生免疫反应,也仅为轻微炎症浸润,可随胶原的降解而消退;③因为胶原表面的特定区域对细胞表面的糖蛋白有高度亲和性^[16],故其黏附性好,利于细胞的生长和基质的沉积以及血管再生及上皮细胞附着;④经过交联,减少了胶

原的降解^[4];⑤胶原材料具有适宜的孔径,保持了天然的渗透性,适合营养物质、生长因子等的扩散和血管长入。

壳聚糖为天然高分子材料,具有无毒性、良好生物相容性、生物可降解性,且降解产物无毒副作用等优点,多糖中仅有一种碱性氨基多糖,它的结构和某些性质与细胞外基质中的主要成分氨基多糖极其相似,而且表面高密度的正电荷有利于黏附带负电荷的细胞,可调控生物活性分子的释放^[17-18]。壳聚糖也有多孔三维支架的空间结构,可为移植的 ESC 提供获取营养、气体交换、排泄废物和生长代谢的场所,为形成新的具有形态和功能的组织提供结构基础。

本实验中选用的胶原海绵是从牛身上提取的 I 型胶原,经过经过 0.01% 戊二醛交联,流水冲洗 2 d, PBS 反复漂洗 1 d, 风干后用⁶⁰Co 消毒处理,细胞毒性小。胶原海绵支架具有合适的孔径和孔隙率,质软、有足够的韧性,可经钳夹、牵拉而不碎,可根据手术需要剪切等特点。在 2 种支架上接种 ESCs,体外用气液界面法继续培养一定时间后,细胞生长良好、可融合成片生长。但较之胶原海绵,壳聚糖材料性质较脆、可塑性没有胶原好,其降解时间较胶原海绵时间长,ESCs 在胶原海绵支架上生长情况较壳聚糖支架好。

综上所述,胶原海绵材料和壳聚糖材料可作为体外培养 ESCs 的良好三维环境模型,其中,胶原海绵支架上培养的 ESCs 增殖情况较壳聚糖支架上的细胞好,利用 LFEMF 体外干预可以实现三维环境中培养的 ESCs 的快速增殖,并在胶原海绵和壳聚糖支架上形成细胞膜片,LFEMF 在皮肤组织工程中具有较大应用潜力。

参 考 文 献

- [1] Voroteliak EA, shikhverdieva ASH, Vasil'ev AV, et al. Simulation of migration process of human epidermal keratinocytes over three-dimensional collagen gel. *Izv Akad Nauk Ser Biol*, 2002,1;30-37.
- [2] Horch RE, Debus M, Wagner G, et al. Cultured human keratinocytes on type I collagen membranes to reconstitute the epidermis. *Tissue Eng*, 2000,6;53-67.
- [3] Bailey AJ. Perspective article: the fate of collagen implants in tissue defects. *Wound Repair Regen*, 2000,8; 5-12.
- [4] Badylak SF. The extracellular matrix as a scaffold for tissue reconstruc-

- tion. Semin Cell Dev Biol, 2002,13:377-383.
- [5] Lam PK, Chan ES, Liew CT, et al. Combination of a new composite biocompatible skin graft on the neodermis of artificial skin in an animal model. ANZ J Surg, 2002,72:360-363.
- [6] Ghadially R. Epidermal stem cells. Adv Dermatol, 2005,21:335-355.
- [7] Kim DS, Cho HJ, Choi HR, et al. Isolation of human epidermal stem cells by adherence and the reconstruction of skin equivalents. Cell Mol Life Sci, 2004,61:2774-2781.
- [8] Prunieras M, Regnier M, Woodley D. Methods for cultivation of keratinocytes with an air-liquid interface. J Invest Dermatol, 1983,81:28-33.
- [9] Grassi C, D'Ascenzo M, Torsello A, et al. Effects of 50 Hz electromagnetic fields on voltage-gated Ca^{2+} channels and their role in modulation of neuroendocrine cell proliferation and death. Cell Calcium, 2004,35:307-315.
- [10] Schwartz Z, Simo BJ, Duran MA, et al. Pulsed electromagnetic fields enhance BMP-2 dependent osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells. J Orthop Res, 2008,26:1250-1255.
- [11] Nikolova T, Czyz J, Rolletschek A, et al. Electromagnetic fields affect transcript levels of apoptosis-related genes in embryonic stem cell-derived neural progenitor cells. FASEB J, 2005,19: 1686-1688.
- [12] Manni V, Lisi A, Serafino A, et al. Low electromagnetic field (50Hz) induces differentiation on primary human oral keratinocytes (HOK). Bioelectromagnetics, 2004,25:118-126.
- [13] Butler CE, Orgill DP, Yannas IV, et al. Effect keratinocyte seeding of collagen-glycosaminoglycan membranes on the regeneration of skin in a porcine model. Plast Reconstr Surg, 1998,101:1572-1579.
- [14] Horch RE, Debus M, Wagner G, et al. Cultured human keratinocytes on type I collagen membranes to reconstitute the epidermis. Tissue Eng, 2000,6:53-67.
- [15] Gragnani A, Morgan JR, Ferreira LM, et al. Differentiation and barrier formation of a cultured composite skin graft. J Burn Car Rehabil, 2002,23:126-131.
- [16] Bailey AJ. Perspective article: the fate of collagen implants in tissue defects. Wound Repair Regen, 2000,8:5-12.
- [17] Montebault A, Tahiri K, Korwin-Zmijowska C, et al. A material decoy of biological media based on chitosan physical hydrogels: application to cartilage tissue engineering. Biochimie, 2006, 88: 551-564.
- [18] Park YJ, Lee YM, Park SN, et al. Platelet derived growth factor releasing chitosan sponge for periodontal bone regeneration. Biomaterials, 2000,21:153-159.

(修回日期:2011-01-24)

(本文编辑:松 明)

《中华物理医学与康复杂志》第七届编辑委员会组成名单

顾问: 许云影(加拿大) 吴宗耀 连倚南(中国台湾) 陈安民 南登崑 谭维溢

名誉总编辑: 郭正成

总 编 辑: 黄晓琳

副 总 编 辑: 吴 毅 李 玲 郭铁成 顾 新 窦祖林 燕铁斌

编 辑 委 员: (按姓氏笔画排序)

尤春景 尹 平 毛容秋 王 伟 王 刚 王 彤 王 强 王宁华 王冰水 王茂斌
 王亭贵(中国台湾) 王颜和(中国台湾) 邓复旦(中国台湾) 冉春风 冯 珍 卢成皆(澳大利亚)
 刘宏亮 华桂茹 孙福成 朱珊珊 汤晓芙 牟 翔 纪树荣 许晓冬 闫金玉 何成奇
 何成松 励建安 吴 华 吴 毅 宋为群 张长杰 张光宇 张志强 张继荣 张盘德
 李 玲 李兴志 李红玲 李建军 李建华 李胜利 李晓捷 李常威(中国香港)
 朱 愈(美国) 杨渝珍 肖 农 陆再英 陈启明(中国香港) 周士枋 周谋望 岳寿伟
 林 伟 范建中 郑光新 恽晓平 洪章仁(中国台湾) 倪国新 倪朝民 徐 军 徐永健
 敖丽娟 袁 华 贾子善 郭钢花 郭铁成 顾 新 顾旭东 高晓平 梁 英 梅元武
 黄 真 黄东锋 黄晓琳 谢 青 谢 荣 谢欲晓 窦祖林 廖维靖 燕铁斌
 Bryan O'Young(美国) Sheila Purves(加拿大)