

· 基础研究 ·

恒强旋转磁场对骨折愈合过程中骨形态蛋白-2 和血小板源性生长因子表达的影响

李海伟 李玉虎 刘海涛 高维伟

【摘要】目的 观察恒强旋转磁场对骨折愈合过程中骨形态蛋白-2 (BMP-2) 和血小板源性生长因子 (PDGFs) 在骨折部位不同时间表达的变化,探讨恒强旋转磁场促进骨折愈合的机制。**方法** 将 80 只建立股骨闭合性骨折模型的 Sprague Dawley (SD) 大鼠按随机数字表法分为磁场干预组和对照组,每组 40 只。磁场干预组大鼠置于 0.4 T 恒强旋转磁场 (浙江康尔医疗器械公司) 中,磁体旋转频率 6 Hz,每日磁场干预 1 次,每次连续 30 min,每周 6 次;对照组未做任何干预处理。分别于骨折后 2、3、4 和 8 周四个观察时间点 (每个时间点 10 只大鼠),观察各组大鼠骨折部位 BMP-2、PDGF-A 和 PDGF-B 免疫组化染色阳性表达,并采用 Nikon 显微成像分析仪 (Nikon 50i, 日本) 拍照 (图像放大 400 倍),用生物图像分析处理软件测量阳性染色区域的积分光密度值 (IOD)。采用双因素方差分析比较时间、磁场的主效应及二者的交互效应。**结果** ①不同时间点各组大鼠骨折部位 BMP-2 阳性表达的 IOD 值比较,差异有统计学意义 ($F = 21.58, P < 0.01$),多重比较显示, BMP-2 阳性染色区域在骨折后 2、3 和 4 周时的 IOD 值均明显高于骨折后 8 周 ($P < 0.01$),骨折后 4 周的 IOD 值亦明显高于骨折后 2 周 ($P < 0.01$);磁场干预与时间存在有交互作用 ($F = 3.17; P < 0.05$)。②磁场干预组与对照组大鼠不同时间点骨折部位的 PDGF-A 阳性表达 IOD 比较,差异有统计学意义 ($F = 28.16, P < 0.01$),多重比较显示,骨折后 2 周骨折部位 PDGF-A 的阳性表达的 IOD 值显著高于骨折后 3 周 ($P < 0.01$)、4 周 ($P < 0.01$) 和 8 周 ($P < 0.01$),骨折后 3 周和 4 周 PDGF-A 的阳性表达 IOD 也显著高于骨折后 8 周 ($P < 0.01$)。③磁场干预组骨折部位的 PDGF-B 阳性表达 IOD 值明显高于对照组 [磁场干预组 (57.6 ± 2.1) vs 对照组 (50.11 ± 2.22)],差异有统计学意义 ($F = 5.98, P < 0.05$);且不同时间点骨折部位 PDGF-B 阳性表达 IOD 值比较,差异亦有统计学意义 ($F = 50.06, P < 0.01$),多重比较显示,骨折后 3 周骨折部位 PDGF-B 阳性表达 IOD 值显著高于骨折后 2 周 ($P < 0.05$)、4 周 ($P < 0.01$) 和 8 周 ($P < 0.01$),骨折后 2 周和 4 周阳性表达 IOD 值亦显著高于骨折后 8 周 ($P < 0.01$)。**结论** 恒强旋转磁场可能通过调节骨折部位 BMP-2 和 PDGF-B 的表达,促进骨折的修复。

【关键词】 磁场; 骨折; 骨形态蛋白; 血小板源性生长因子

The effect of rotation constancy static magnetic field on the expression of BMP-2 and PDGFs during fracture healing Li Haiwei*, Li Yuhu, Liu Haitao, Gao Weiwei. * School of Physical Education, Shanxi Normal University, Linfen 041000, China

Corresponding author: Gao Weiwei, Email: bsugww@163.com

【Abstract】 Objective To evaluate the effect rotation constancy static magnetic field (RCSMF) on the expression of bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) and platelet-derived growth factors (PDGFs) in fracture healing, and elucidate the possible mechanism of RCSMF promoting fracture healing. **Methods** A total of 80 rats with femur closed fracture were randomly divided into a magnetic treatment group (M) and a control group (C). The M group was given RCSMF treatment 30 minutes per day, 6 times per week, using 0.4 T 6 Hz magnetic field, while the C group was not given any intervention. Femurs and calluses were subjected to BMP-2, PDGF-A and PDGF-B immunohistochemistry assay at 2, 3, 4 and 8 weeks after the treatment. The integrated optical density (IOD) of positive staining was calculated. Two-factor variance analysis was used to compare the main effect of time, treatment and that of their interaction. **Results** For both groups, the IOD of immunoreactivity of BMP-2 at 2, 3 and 4 weeks after the treatment was significantly higher than that 8 weeks after the treatment, and the value at four weeks after the interven-

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2015.010.001

基金项目:中央高校基本科研业务费专项资金资助(2012BS009)

作者单位:041000 临汾山西师范大学体育学院(李海伟);北京体育大学研究生院(李海伟、刘海涛);湛江国家体育总局湛江潜水运动学校(李玉虎);北京体育大学运动医学教研室(高维伟)

通信作者:高维伟,Email:bsugww@163.com

tion was also significantly higher than that at 2 weeks after it. There was a significant interaction effect of time $\times$ treatment of BMP-2 ($F=3.17$, $P<0.05$). Significant differences were observed in the IOD of positive staining PDGF-A at different time points for both groups; the value at 2 weeks after treatment was significantly higher than that at 3, 4 and 8 weeks after the treatment, and that at 3 and 4 weeks after treatment was also significantly higher than that at 8 weeks after the treatment. The IOD of positive staining PDGF-B of the M group (57.6 ± 2.1) was significantly higher than that of the C group (50.11 ± 2.22 , $P<0.05$). There was significant difference in the IOD of positive staining PDGF-B ($F=50.06$, $P<0.01$) at different time points; the IOD of positive staining PDGF-B at 3 weeks after treatment was significantly higher than that at 2 and 8 weeks group after the treatment, and the value at 2 and 4 weeks after treatment was also significantly higher than that at 8 weeks after the treatment. **Conclusion** RCSMF may elevate the expression BMP-2 and PDGF-B to promote fracture healing.

【Key words】 Magnetic field; Fracture; Bone morphogenetic protein; Platelet-derived growth factors

自 20 世纪 70 年代有学者^[1]提出电磁场可以促进骨折的愈合起,磁场作为一种非侵入性治疗手段受到学界的关注。已有研究表明,恒强旋转磁场不仅能促进骨质疏松引起的骨折愈合^[2],还能促进外力所致骨折的愈合^[3]。有学者进一步研究发现恒强旋转磁场干预促进骨折部位血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、成纤维生长因子(fibroblast growth factors, FGF)和转化生长因子(transforming growth factor, TGF)表达的变化,初步解释了恒强旋转磁场促进外力所致骨折愈合的机制^[4]。骨形态蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)是体内最强的促进骨折修复因子之一,研究显示给予骨折缺损部位载有骨形态蛋白-2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2)的可吸收胶原,可以使骨折缺损愈合加快 33%^[5]。血小板源性生长因子(platelet-derived growth factors, PDGFs)亦被认为是骨折修复中不可缺少的因子之一,给予骨折部位 PDGFs 亦可显著加速骨折愈合^[6]。恒强旋转磁场促进骨折愈合过程中, BMPs 及 PDGFs 这两类骨折修复因子在骨折部位表达的时序变化规律尚未有研究探讨。本研究通过观察恒强旋转磁场对骨折愈合过程中骨形态蛋白-2(BMP-2)和血小板源性生长因子(PDGFs)在骨折部位不同时间表达的变化,旨在探讨恒强旋转磁场促进骨折愈合的机制。

材料与方法

一、实验动物及饲养

选取 8~12 周龄雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 80 只,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,动物饲养于 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$, 湿度 40%~60%, 光/暗周期为 12 h/12 h 环境,自由摄入食物和水。

二、骨折模型制作及动物分组

依据已有文献^[3]报道的方法建立大鼠股骨中段闭合性骨折模型,选取造模成功的大鼠。将造模合格的 80 只大鼠按随机数字表法分为磁场干预组和对照

组,每组 40 只;再按骨折后观察时间的不同将各组大鼠分为骨折后 2、3、4 和 8 周四个观察时间点,每个观察时间点 10 只大鼠。

三、磁场干预治疗

造模结束后,各组大鼠分笼饲养,自由饮食。将磁场干预组大鼠置于恒强旋转磁场(浙江康尔医疗器械公司)中进行干预;磁场由稀土磁钢制成的圆柱形永磁体产生,磁体旋转频率 6 Hz,旋转时在磁体上方 20 cm 内形成一个直径 60 cm 的有效半球形旋转磁场(可容纳整只大鼠),磁场强度 0.4 T;磁场干预每日 1 次、每次连续 30 min,每周 6 次。对照组大鼠未做任何干预处理。

四、取材及免疫组化染色

分别于骨折后 2、3、4 和 8 周四个观察时间点,处死相应时间点的各组大鼠。取出股骨,拔出克氏针,4% 甲醛中固定 24 h 后,移入 14.7% 的乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)溶液中微波脱钙。脱钙完成后以骨折线为中心截取 1 cm 脱钙后股骨。常规脱水,透明石蜡包埋。组织纵形切片,厚度 5 μm 。

将 5 μm 石蜡切片常规脱蜡至水,37 $^\circ\text{C}$ 胰酶抗原修复,3% 双氧水封闭内源性过氧化物酶,10% 山羊血清封闭非特异性抗原,分别加一抗 BMP-2、PDGF-A 和 PDGF-B(1:100 倍稀释,北京博奥森生物技术有限公司)于 4 $^\circ\text{C}$ 孵育过夜,滴加生物素化二抗,过氧化物酶复合物, DAB 显色,苏木素复染,中性树胶封片。

五、图像分析及统计学方法

每个标本抽取 3 张切片,每张切片选取 5 个视野,视野的选取方法依据 Wang 等^[7]文献报道的方法进行。采用 Nikon 显微成像分析仪(Nikon 50i, 日本)拍照,图像放大 400 倍;用生物图像分析处理软件(MetaMorph Premier Offline, 7.7 版,美国)测量阳性染色区域的积分光密度值(integrated optical density, IOD)。

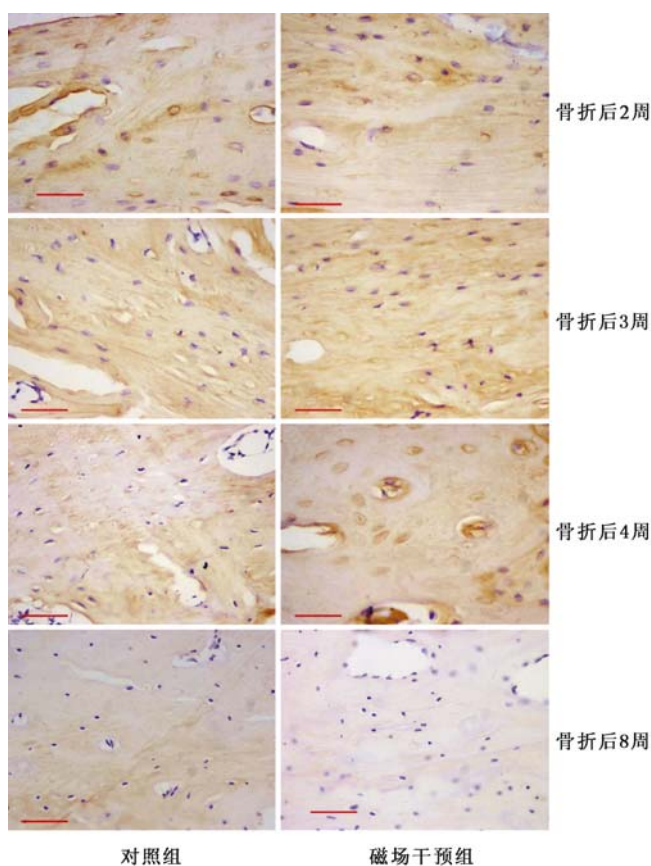
测得的 IOD 经过数据转换(取平方根)成正态分

布数据后,以($\bar{x} \pm s$)表示。BMP-2、PDGF-A 和 PDGF-B 分别行双因素(处理:磁场干预组和对照组;时间:骨折后 2、3、4 和 8 周)方差分析,分别比较磁场干预、时间的主效应及交互效应,采用 LSD 法进行不同时间亚组的多重比较(Post-Hoc)。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

结 果

一、恒强旋转磁场干预对骨折部位 BMP-2 表达的影响

骨折后 2 周时,对照组和磁场干预组在软骨细胞、部分间充质细胞、软骨基质中成骨细胞和骨基质中,均存在有 BMP-2 的表达。随着骨折愈合的进行,BMP-2 阳性染色出现不同的变化:对照组在骨折后 3 周和骨折后 4 周两个时间点的 BMP-2 阳性染色程度并无显著的变化,染色的区域集中在软骨细胞和基质中成骨细胞的内衬上;而磁场干预组的 BMP-2 阳性染色在骨折后 3 周和骨折后 4 周时明显增加,增加的部位集中于基质中的成骨细胞。骨折后 8 周时,随着编织骨向板层骨的转化,成骨细胞的染色明显减少。免疫组化染色的形态学表现详见图 1。



注:图中标尺长度 50 μm

图 1 2 组大鼠不同时间点 BMP-2 的免疫组化镜下观(免疫组化染色, $\times 400$)

双因素的方差分析结果显示,磁场干预组与对照组大鼠骨折部位 BMP-2 阳性表达的 IOD 值比较,差异无统计学意义($F = 1.84, P = 0.18$);骨折后 2、3、4 和 8 周时, BMP-2 阳性表达的 IOD 值分别为 (62.00 ± 15.12)、(67.91 ± 12.85)、(74.35 ± 13.56) 和 (37.76 ± 9.74), 4 个时间点之间差异有统计学意义($F = 21.58, P < 0.01$),多重比较显示, BMP-2 阳性染色区域在骨折后 2、3 和 4 周的 IOD 值均明显高于骨折后 8 周,且差异有统计学意义($P < 0.01$),骨折后 4 周的 IOD 值亦明显高于骨折后 2 周($P < 0.01$)。磁场干预与时间存在有交互作用($F = 3.17, P < 0.05$)。2 组 BMP-2 阳性染色区域的 IOD 值随时间变化的比较情况如图 2 所示。

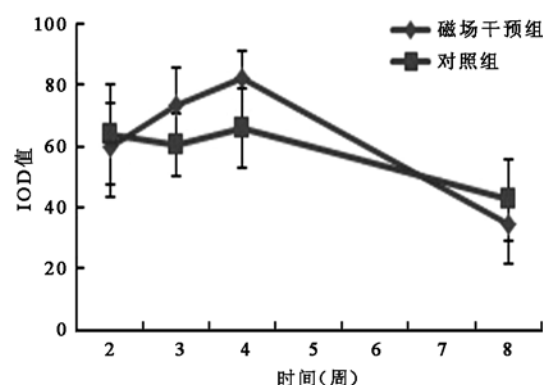


图 2 2 组大鼠不同时间点 BMP-2 阳性染色 IOD 值的变化比较

二、恒强旋转磁场对骨折部位 PDGF-A 表达的影响

对照组与磁场干预组大鼠骨折部位 PDGF-A 的阳性表达区域及变化无明显差异。骨折后 2 周时,2 组大鼠的 PDGF-A 阳性表达最强,主要集中在骨基质中的成骨细胞、软骨细胞以及肥大的软骨细胞中,但随着时间的延长,2 组大鼠的 PDGF-A 阳性染色明显下降;骨折后 8 周时,仅有少量编织骨中的成骨细胞染色呈阳性,具体免疫组化染色情况详见图 3。

双因素的方差分析结果显示,磁场干预组与对照组大鼠骨折部位不同时间点的 PDGF-A 阳性表达 IOD 值比较,差异有统计学意义($F = 28.16, P < 0.01$);多重比较显示,骨折后 2 周骨折部位 PDGF-A 的阳性表达的 IOD 值(68.18 ± 10.98)显著高于骨折后 3 周(57.07 ± 8.81)、4 周(58.76 ± 8.37)和 8 周(39.77 ± 4.73),差异均有统计学意义($P < 0.01$),骨折后 3 周和 4 周 PDGF-A 的阳性表达 IOD 也显著高于骨折后 8 周($P < 0.01$)。磁场干预组与对照组之间差异无统计学意义($P = 0.70$)。磁场干预与时间之间无交互作用($P = 0.75$)。2 组 PDGF-A 阳性表达的 IOD 值随时间变化的情况如图 4 所示。

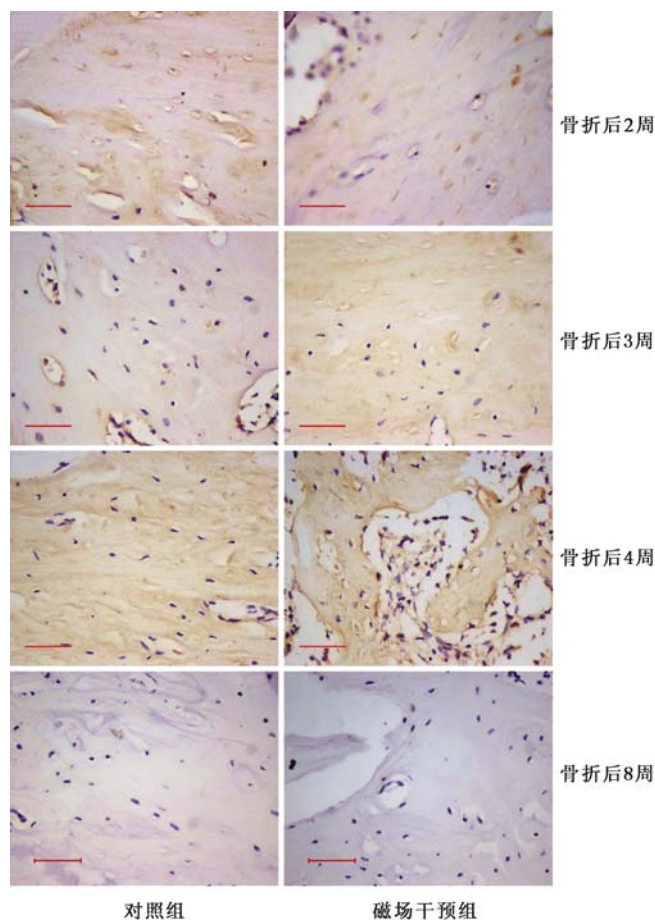


图 3 2 组大鼠不同时间点的 PDGF-A 免疫组化镜下观 (免疫组化染色, $\times 400$)

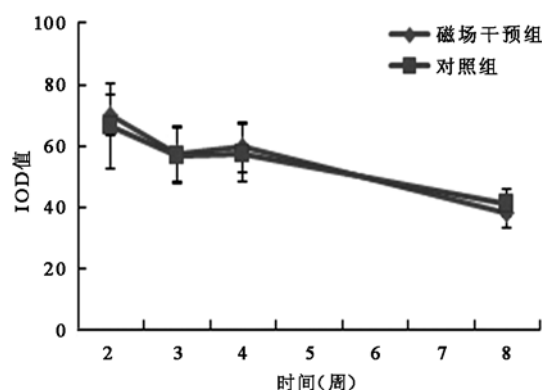


图 4 2 组大鼠不同时间点 PDGF-A 阳性染色 IOD 值的变化比较

三、恒强旋转磁场对骨折部位 PDGF-B 表达的影响

骨折后 2 周时,对照组与磁场干预组大鼠骨折部位 PDGF-B 的阳性表达并无明显差异,阳性染色区域主要集中在软骨细胞边缘、软骨基质中成骨细胞的内衬以及部分间充质细胞。随着骨折愈合时间的延长,2 组呈现不同的阳性染色特点,磁场干预组在骨折后 3 周时,PDGF-B 的阳性染色区域及强度高于对照组,此时的阳性染色区域主要集中在肥大的软骨细胞、骨基

质中的成骨细胞的内衬中。骨折后 4 周时,磁场干预组 PDGF-B 的阳性表达亦高于对照组,除骨基质中成骨细胞表达外,重建骨质边缘的破骨细胞中也有大量的表达。具体免疫组化染色情况详见图 5。

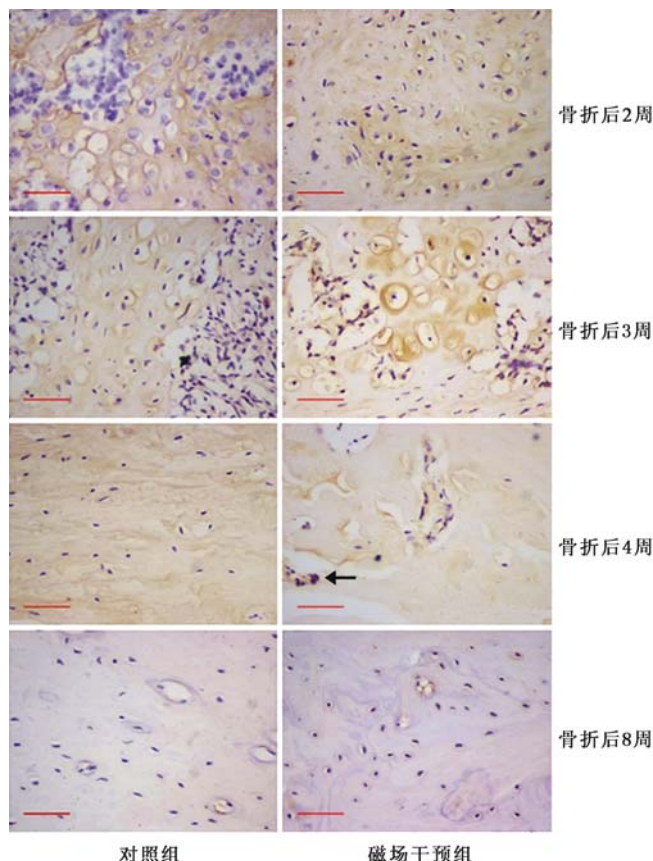


图 5 2 组大鼠不同时间点的 PDGF-B 免疫组化镜下观 (免疫组化染色, $\times 400$)

双因素的方差分析显示,磁场干预组与对照组大鼠骨折部位 PDGF-B 阳性表达 IOD 值不同时间点间比较,差异有统计学意义 ($F = 50.06, P < 0.01$),多重比较显示骨折后 3 周骨折部位 PDGF-B 阳性表达 IOD 值显著高于骨折后 2 周 ($P < 0.05$),4 周 ($P < 0.01$) 和 8 周 ($P < 0.01$),骨折后 2 周和骨折后 4 周阳性表达 IOD 值亦显著高于骨折后 8 周 ($P < 0.01$)。磁场干预组 PDGF-B 阳性表达的 IOD 值 (57.6 ± 2.1) 明显高于对照组 (50.11 ± 2.22),组间差异有统计学意义 ($F = 5.98, P < 0.05$)。磁场干预与时间无交互作用 ($P > 0.05$)。2 组 PDGF-B 阳性表达的 IOD 值随时间变化的情况如图 6 所示。

讨 论

国内学者发现,恒强旋转磁场可以显著提高骨质疏松大鼠及正常大鼠的骨密度^[8-9],促进骨折的愈合^[3],并改变骨折部位部分生长因子的表达^[4]。骨折

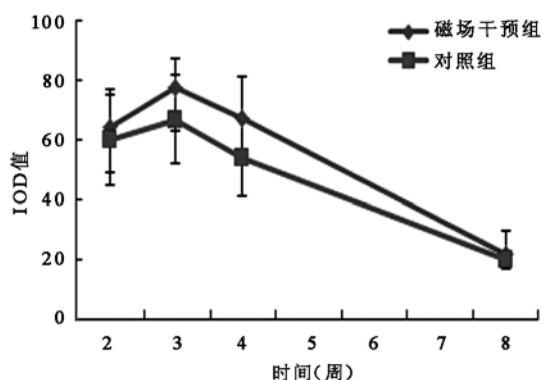


图6 2组大鼠不同时间点 PDGF-B 阳性染色 IOD 值的变化比较

愈合过程有许多局部和全身的调节因子,包括生长和分化因子、激素和细胞外基质,共同发挥作用,这些因子作用于骨折局部,引起未分化的间充质细胞向骨折部位迁移、增殖和分化^[10]。

BMPs 最早由 Urist^[11] 发现,它属于转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- β 超家族^[12]。骨形态的发生和分化是一系列的细胞内级联放大的过程,由骨形态蛋白启动^[13]。BMP-2 和其它 BMPs 家族成员一样,在软骨和骨的发育中起着重要作用。BMP-2 的主要功能是细胞内的级联反应,包括间充质干细胞的趋化作用及其细胞的增殖、分化。本研究结果显示,不同时间点的 BMP-2 在骨折部位阳性表达的 IOD 值差异存在有统计学意义($P < 0.01$),这一结果与以往的研究结果相似,随着骨折修复的进展,骨折部位 BMP-2 的表达显著降低^[14-15]。然而随着磁场作用时间的延长,本研究双因素方差分析结果表明,磁场干预与时间存在有交互作用($F = 3.17, P < 0.05$);从图 2 中可以看出,对照组在骨折后 2~4 周这段时间,其 BMP-2 的阳性表达基本上维持在一个水平,而磁场干预组大鼠恒强旋转磁场干预后 BMP-2 的表达呈现明显的增高,且在骨折后 4 周时达到一个峰值,提示恒强旋转磁场促进了 BMP-2 的表达且具有时间窗口效应。

宋明宇等^[16]采用 15 Hz 1 mT 的正弦波电磁场研究不同作用时间下正弦波电磁场对大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化效应的影响,发现该磁场刺激 7 d 时,每日刺激 4 h 组诱导骨髓间充质细胞(bone marrow stromal cells, BMSCs)的作用最佳;刺激 14 d 和 28 d 时,每日刺激 1 h 组诱导 BMSCs 的作用最佳,提示磁场诱导 BMSCs 向成骨细胞方向分化有明显的时间窗口效应。葛保健等^[17]研究工频电磁场对体外培养的小鼠骨髓间充质干细胞 BMP-2 mRNA 表达的影响发现,相同作用时间下, BMP-2 mRNA 的表达于 1.6 mT 场强中达最大值;1.6 mT 场强条件下,电磁场连续照射 5 d,每日 1 h,可使 BMP-2 mRNA 表达均达到最大值,提示 BMP-2 的表达会受到磁场强度及作用时间的双重影

响。结合本研究及洪艳^[3]的组织学研究结果,恒强旋转磁场可以增强 BMP-2 诱导、增殖和分化间充质细胞向成骨细胞的转化,同时转化的成骨细胞可以进一步分泌 BMP-2,从而加强其成骨作用,从而加速骨折部位的修复。

PDGF 有两个多肽链(A 和 B)组成的同二聚体或异二聚体共三种形式(AA、AB 和 BB),有位于不同染色体上的两个不同的基因编码而成^[18-19],而 PDGF 受体(platelet-derived growth factor receptor, PDGFR)有两种类型 PDGFR- α 和 PDGFR- β 。研究还发现,PDGFR- α 可以和三种 PDGF 亚型结合,而 PDGFR- β 只与 PDGF-BB 结合^[20-21]。PDGF 能够促进体外的成骨细胞的有丝分裂,主要可以在血小板、巨噬细胞^[22]或成骨细胞^[23]中产生,并且在骨基质中存在。本研究发现,骨折后 2 周时 PDGF-A 在骨折部位中的多种细胞内均有大量表达,双因素方差分析表明,随着骨折愈合时间的延长 PDGF-A 逐渐降低,磁场干预对 PDGF-A 无显著影响,且时间与磁场间无交互作用。Andrew 等^[24]研究发现,PDGF-A 在骨折愈合早期肉芽组织中的大多数细胞中表达,而且表达量远多于 PDGF-B。Fujii 等^[25]研究也发现,PDGF-A 及其受体在骨折后 7 d 时表达最高,然后迅速降低。如上所述,由于 PDGF-A 在骨折早期表达且下降较快,可能恒强旋转磁场尚未发挥作用时,PDGF-A 的表达已经显著降低,而本研究的观察最早开始于骨折后 2 周,所以未观察到 2 组骨髓肉芽组织阶段该因子表达的差异。

本研究中,PDGF-B 在骨折部位的阳性表达却与 PDGF-A 不同,随着骨折愈合时间的延长,呈现先增加后降低的变化趋势,而且磁场干预组的阳性表达显著高于对照组。研究发现骨折 2 周后,PDGF-B 可以在肥大的软骨细胞、骨基质中的成骨细胞陷窝以及破骨细胞内进行表达,而 PDGF-A 也能在软骨细胞及基质中的成骨细胞的内衬中检测到,但其表达量显著降低且在破骨细胞中并没有表达^[25],这提示 PDGF-B 后期的高表达,除了与成骨作用有关外,也可能与骨痂改建中的破骨细胞功能有关。Zhang 等^[26]研究 PDGF-BB 对体外培养的成熟破骨细胞的影响,免疫组化检测发现,破骨细胞表面有 PDGF- β 受体表达,将 4 种不同浓度的 PDGF-BB 施加到破骨细胞的培养环境中发现,Howship's 腔隙显著增加,吸收的凹陷也显著增加,且随着 PDGF-BB 剂量的增加显著增加,代表破骨细胞活性的总酸性磷酸酶活力和抗酒石酸酸性磷酸酶活力显著增加,这表明 PDGF-B 与骨折部位的骨痂改建有关。徐亚青等^[27]观察大鼠股骨干骨折后 4 周时 PDGF-B mRNA 阳性染色细胞数显著高于骨折后 3 周时的阳性染色细胞数,而且大都集中在破骨细胞上,从基因表达

角度证实了 PDGF-B 在骨折修复改建中的作用。因此可以推测,恒强旋转磁场促进骨折 2~8 周这一阶段 PDGF-B 的表达,除提高其成骨细胞功能之外,也与恒强旋转磁场提高破骨细胞的功能,促进骨折骨痂的改建有关。

综上所述,恒强旋转磁场可能通过改变 BMP-2 和 PDGF-B 在骨折部位的表达促进骨折的愈合。恒强旋转磁场干预可以通过提高骨折部位 BMP-2 的阳性表达来促进骨折部位的成骨能力,但具有时间窗口效应;由于 PDGF-A 的作用主要发生在骨折的早期,因此恒强旋转磁场对其没有显著的影响;恒强旋转磁场可显著提高骨折修复部位 PDGF-B 的表达,除与 PDGF-B 的成骨能力外,可能与骨折修复晚期的骨痂重建有关。

参 考 文 献

- [1] Bassett CA, Pawluk RJ, Pilla AA. Augmentation of bone repair by inductively coupled electromagnetic fields[J]. Science, 1974,184(4136):575-577.
- [2] 李文革,王晓梅,李继云,等. 骨质疏松性骨折模型建立与磁场对骨折愈合的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2010,18(9):7-9.
- [3] 洪艳. 恒强旋转磁场对大鼠股骨干骨折愈合的影响[D]. 北京:北京体育大学,2011.
- [4] 李玉虎. 磁场对大鼠股骨干骨折愈合中 VEGF、FGF 和 TGF- β 的影响[D]. 北京:北京体育大学,2012.
- [5] Boussein ML, Turek TJ, Blake CA, et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 accelerates healing in a rabbit ulnar osteotomy model[J]. J Bone Joint Surg Am, 2001,83-A(8):1219-1230.
- [6] Bordei P. Locally applied platelet-derived growth factor accelerates fracture healing[J]. J Bone Joint Surg Br, 2011,93(12):1653-1659.
- [7] Wang FS, Yang KD, Kuo YR, et al. Temporal and spatial expression of bone morphogenetic proteins in extracorporeal shock wave-promoted healing of segmental defect[J]. Bone, 2003,32(4):387-396.
- [8] 张小云,薛延,苏湘鄂,等. 磁场对去卵巢大鼠骨密度、骨强度和骨代谢的影响[J]. 基础医学与临床, 2002,22(06):550-553.
- [9] 张宇,张小云. 旋转磁场对去卵巢大鼠骨钙含量及其相关因子的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2004,26(09):524-526.
- [10] Bolander ME. Regulation of fracture repair by growth factors[J]. Proc Soc Exp Biol Med, 1992,200(2):165-170.
- [11] Urist MR. Bone: formation by autoinduction[J]. Science, 1965,150(3698):893-899.
- [12] Chen D, Zhao M, Mundy GR. Bone morphogenetic proteins[J]. Growth Factors, 2004,22(4):233-241.
- [13] Reddi AH. Bone morphogenetic proteins: from basic science to clinical applications[J]. J Bone Joint Surg Am, 2001,83-A (Suppl 1): S1-S6.
- [14] Bostrom MP, Lane JM, Berberian WS, et al. Immunolocalization and expression of bone morphogenetic proteins 2 and 4 in fracture healing[J]. J Orthop Res, 1995,13(3):357-367.
- [15] Onishi T, Ishidou Y, Nagamine T, et al. Distinct and overlapping patterns of localization of bone morphogenetic protein (BMP) family members and a BMP type II receptor during fracture healing in rats[J]. Bone, 1998,22(6):605-612.
- [16] 宋明宇,杨勇,虞冀哲,等. 不同作用时间下正弦波电磁场对大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化的效应[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2012,34(6):426-430.
- [17] 葛保健,方真华,赵文春,等. 工频电磁场对小鼠骨髓间充质干细胞 BMP-2 和 TGF- β 1 mRNA 表达的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2004,26(5):262-265.
- [18] Yarden Y, Escobedo JA, Kuang WJ, et al. Structure of the receptor for platelet-derived growth factor helps define a family of closely related growth factor receptors[J]. Nature, 1986,323(6085):226-232.
- [19] Claesson-Welsh L, Heldin CH. Platelet-derived growth factor. Three isoforms that bind to two distinct cell surface receptors[J]. Acta Oncol, 1989,28(3):331-334.
- [20] Matsui T, Heidaran M, Miki T, et al. Isolation of a novel receptor cDNA establishes the existence of two PDGF receptor genes[J]. Science, 1989,243(4892):800-804.
- [21] Hart CE, Bowen-Pope DF. Platelet-derived growth factor receptor: current views of the two-subunit model[J]. J Invest Dermatol, 1990, 94(6 Suppl):53S-57S.
- [22] Shimokado K, Raines EW, Madtes DK, et al. A significant part of macrophage-derived growth factor consists of at least two forms of PDGF[J]. Cell, 1985,43(1):277-286.
- [23] Zhang L, Leeman E, Carnes DC, et al. Human osteoblasts synthesize and respond to platelet-derived growth factor[J]. Am J Physiol, 1991,261(2 Pt 1):C348-354.
- [24] Andrew JG, Hoyland JA, Freemont AJ, et al. Platelet-derived growth factor expression in normally healing human fractures[J]. Bone, 1995,16(4):455-460.
- [25] Fujii H, Kitazawa R, Maeda S, et al. Expression of platelet-derived growth factor proteins and their receptor alpha and beta mRNAs during fracture healing in the normal mouse[J]. Histochem Cell Biol, 1999, 112(2):131-138.
- [26] Zhang Z, Chen J, Jin D. Platelet-derived growth factor (PDGF)-BB stimulates osteoclastic bone resorption directly: the role of receptor beta[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998,251(1):190-194.
- [27] 徐亚青,姜小华,吴叶. PDGF 在大鼠股骨干骨折愈合过程中的表达[J]. 中国骨肿瘤骨病, 2011,10(1):46-49.

(修回日期:2015-08-13)

(本文编辑:汪 玲)