

· 基础研究 ·

人脐带血干细胞外泌体对大鼠股骨头坏死的影响[△]

胥云飞^{1,2}, 胡兆林³, 江晨阳^{1,2}, 张宏军^{2*}

(1. 河南大学临床医学院, 河南开封 475004; 2. 河南省人民医院骨科, 河南郑州 450003;
3. 安阳市人民医院骨科, 河南安阳 455000)

摘要: [目的] 探讨人脐带间充质干细胞外泌体 (human umbilical cord mesenchymal stem cell - exosomes, hUCMSC-Exos) 防治大鼠激素性股骨头坏死的疗效及其潜在机制。[方法] 36 只雄性 7 周龄 Sprague-Dawley 大鼠随机分为 3 组, 每组 12 只。空白对照组给予 0.9% 的盐水静脉注射; 模型组给予静脉注射脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 和甲泼尼龙 (methylprednisolone, MPS) 制备股骨头坏死模型; 外泌体组在模型组给予的基础上, 静脉注射 hUCMSC-Exos。在第 28 d 处死大鼠, 取股骨头行组织学 Micro CT 检测。[结果] 透射电子显微镜和 Western blot 的检测表明, 所提取分离物符合 Exos 基本特征。HE 染色组织形态观察, 三组的空骨陷窝率: 模型组>外泌体组>空白对照组, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。TUNEL 染色成骨细胞凋亡率, 模型组>外泌体组>空白对照组, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。Micro CT 检测方面, 与空白对照组相比, 模型组大鼠的 BV/TV、Tb.Th、Tb.N 数目均显著降低 ($P<0.05$), 而 Tb.Sp 显著升高 ($P<0.05$); 与模型组比较, 外泌体组大鼠的 BV/TV、Tb.Th、Tb.N 数目均显著升高 ($P<0.05$), 而 Tb.Sp 显著降低 ($P<0.05$)。[结论] 人脐带间充质干细胞外泌体可能通过抑制成骨细胞凋亡, 预防大鼠激素性股骨头坏死。

关键词: 激素性股骨头坏死, 人脐带间充质干细胞, 外泌体, 成骨细胞凋亡

中图分类号: R318 文献标志码: A 文章编号: 1005-8478 (2023) 08-0724-06

Effects of human umbilical cord blood stem cell exosomes on femoral head necrosis in rats // XU Yun-fei^{1,2}, HU Zhao-lin³, JIANG Chen-yang^{1,2}, ZHANG Hong-jun². 1. School of Clinical Medicine, Henan University, Kaifeng 475004, China; 2. Department of Orthopedics, People's Hospital of Henan Province, Zhengzhou 450003, China; 3. Department of Orthopedics, People's Hospital of Anyang City, Anyang 455000, China

Abstract: [Objective] To explore the role and potential mechanism of human umbilical cord mesenchymal stem cell-exosomes (hUCMSC-exos) in the prevention and treatment of steroid-induced femoral head necrosis in rats. **[Methods]** A total of 36 7-week-old male Sprague-Dawley rats were randomly divided into 3 groups, with 12 rats in each group. The animals in the blank control group were given 0.9% normal saline intravenously, those in the model group was given lipopolysaccharide (LPS) and methylprednisolone (MPS) intravenously to create the femoral head necrosis model, while those in the exosome group received hUCMSC-Exos intravenously on the basis of the drugs given in the model group. The rats were sacrificed 28 days later, and the femoral heads were harvested for histological observation and micro CT examination. **[Results]** Transmission electron microscopy and Western blot showed that the extracts isolated was consistent with the basic characteristics of exos. The empty rate of bone lacunae in three groups showed by HE staining was ranked up-down in order of the model group > the exosome group > the blank control group, with statistically significant differences between them ($P<0.05$). Apoptosis rate of osteoblasts revealed by Tunel staining was also ranged up-down as the model group > the exosome group > the blank control group, which were statistically significant between them ($P<0.05$). Compared with the blank control group, the BV/TV, Tb.Th and Tb.N significantly decreased ($P<0.05$), while Tb.Sp significantly increased in the model group ($P<0.05$). Compared with the model group, the BV/TV, Tb.Th and Tb.N significantly increased ($P<0.05$), while Tb.Sp significantly decreased in the exosome group ($P<0.05$). **[Conclusion]** The exosomes obtained from human umbilical cord mesenchymal stem cells does prevent steroid-induced femoral head necrosis in rats by inhibiting osteoblast apoptosis in this study.

Key words: steroid-induced femoral head necrosis, human umbilical cord mesenchymal stem cells, exosomes, osteoblast apoptosis

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2023.08.11

[△]基金项目:省部共建青年项目(编号:SB201903016)

作者简介:胥云飞,硕士研究生在读,研究方向:股骨头坏死的综合治疗,(电话)13540670809,(电子信箱)xuyunfei1999@163.com

* 通信作者:张宏军,(电话)13838058106,(电子信箱)zdzjhj2000@126.com

激素性股骨头坏死 (steroid induced avascular necrosis of femoral head, SANFH), 是由于长期使用激素类的药物, 使股骨头缺血、缺氧从而导致骨细胞、骨髓成分坏死, 在持续机械应力作用下以股骨头塌陷为特征的代谢性疾病^[1]。SANFH 恢复困难、致残率高, 严重影响生活质量, 是骨科学领域亟待解决的难题之一, 由于其发病机制尚未阐明, 目前缺乏有效的非手术治愈方法^[2]。现已证实, 糖皮质激素 (glucocorticoids, GCs) 是 SANFH 重要致病因素, 长期或短时间大剂量应用 GCs 诱导的成骨细胞凋亡, 在 SANFH 发病中发挥重要作用^[3, 4]。最新研究证实, 以间充质干细胞 (mesenchyma stem cell, MSC) 为主的生物制剂对本病有较大帮助, 具有极大的优势和潜力, 可有效延缓疾病进程并治疗本病^[5-7]。

MSC 属于成体干细胞, 可自我增殖, 亦具有多类型细胞分化的潜能^[8]。MSC 包括滑膜来源、脂肪来源和骨髓来源间充质干细胞, 在组织修复与再生方面具有广阔的应用前景, 是较为理想的种子细胞^[9, 10]。与其他种类干细胞相比, 人脐带间充质干细胞 (human umbilical cord mesenchymal stem cells, hUCMSC) 更原始, 再生性与适应性更好, 且脐带中干细胞含量更多, 具有强大的多潜能分化、自我复制、成骨、软骨诱导分化能力和集落刺激能力及免疫原性低等特点, 是细胞治疗的首选方案^[11]。研究表明, MSC 治疗效果主要取决于外泌体 (exosomes, Exos), Exos 是多种细胞来源的囊泡, 直径为 30~100 nm, 作为纳米级载体, 能将信使 RNA (mRNA)、miRNA 和蛋白质等多种物质传递至受体细胞, 在细胞间的通讯中起重要作用^[12-14]。

迄今为止, 国内外尚无研究报道 hUMSC-Exos 在 GCs 诱导的股骨头坏死中是否发挥有益作用。本研究将在提取 hUMSC-Exos 和大鼠 SANFH 造模的基础上, 系统地评价人脐带间充质干细胞外泌体对 SANFH 的影响。

1 材料与方法

1.1 人脐带血间充质干细胞外泌体制备与鉴定

hUCMSC 由深圳市茵冠生物科技有限公司制备提供, 多次传代至第 3~5 P 后, 收集冻存用于实验。使用流式细胞仪分析 hUCMSC 的表面抗原。单克隆抗体: CD44-PE, CD166-PE, CD73-PE, CD105-PE, CD90-PE, CD14-PE, CD19-PE, CD34-PE 和 CD45-PE, 并使用 Guava easyCyte™ 系统分析。

采用超高速离心法提取外泌体^[15], 得到的沉淀即为外泌体, 重悬于 PBS 中, 用 BCA 法测定外泌体质量浓度, -80℃ 保存备用。

把 Exos 使用 PBS 缓冲液稀释后, 取 10 μl, 放置于 2 mm 载样铜网上, 静置 5 min 后, 滤纸吸干, 磷钨酸钠进行染色, 透射电镜观察并拍照。Western blot 鉴定外泌体特征性标志物 CD9, CD63, CD81 的表达。

1.2 动物分组与处理

清洁级 36 只雄性 7 周龄 Sprague-Dawley 大鼠, 体重约 (200±20) g, 购买于北京维通利华实验动物技术有限公司, 生产许可证号: SCXK (湘) 2019-0004, 饲养温度 25℃, 湿度 50%。研究方案已获得武汉大学伦理委员会批准 (编号: 20180920)。随机将动物分为 3 组, 每组 12 只, 分别给予以下处理。

空白对照组: 大鼠在 1 周内接受 0.9% 的盐水注射。

模型组: 在第 1~2 d 每日尾静脉注射 2 mg/kg 脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS), 在第 3~7 d 每日肌肉注射甲泼尼龙 (methylprednisolone, MPS) 20 mg/kg。

外泌体组: 在第 1~2 d 每日尾静脉注射 2 mg/kg LPS, 在第 3~7 d 每日肌肉注射 MPS 20 mg/kg, MPS 注射前 2 h, 给予尾静脉注射 hUCMSC-Exos (1×10¹⁰/ml)。

在第 28 d 脊椎脱臼法处死大鼠, 取股骨头样品, 进行以下检测。

1.3 检测指标

1.3.1 组织学检测

HE 染色: 采用酒精梯度法, 对切片进行梯度脱水; 采用苏木素染液, 对切片进行染色, 持续染色 5 min; 把切片放到 Scott 液中, 进行返蓝处理; 在伊红溶液内, 放入切片, 染色, 持续时间为 3 min, 冲洗干净; 依次使用 70%、90% 和 100% 这 3 种浓度的酒精, 分别将切片脱水 3 min, 随后放入二甲苯溶液中, 进行漂洗, 漂洗持续时间为 3 min, 擦干二甲苯溶液后, 用封片剂进行封片; 选取染好的切片, 进行观察与拍照, 对于每张股骨头组织石蜡切片, 镜下观察空骨陷窝数量用于形态学分析与评估, 至少观察 3 个视野。

TUNEL 染色: 将切片放入二甲苯溶液中, 浸泡 4 min, 重复该步骤两次; 将切片依次放入无水乙醇、95% 和 70% 乙醇内, 分别持续浸泡 5 min; 采用双蒸水洗涤 2 次; 使用 PBS 缓冲液清洗 5 min, 重复该步骤 2 次; 每个样品中加入 20 μl 蛋白酶 K, 在室

温孵育 10 min, 随后用 PBS 缓冲液洗涤; 加入 10% 胎羊血清, 孵育 1 h; 配制 Label 和 Enzyme solution 混合液 (体积比为 1:9), 将上述混合液滴加到股骨头组织石蜡切片上, 在室温孵育 1 h, 使用 PBS 缓冲液漂洗 2 min, 重复此步骤 1 次; 封片, 镜下观察凋亡细胞数目, 每张切片观察至少 3 个视野。

1.3.2 Micro CT 检测

将待检股骨头置入微 Micro CT 进行扫描, 选择 20 μm 数量级进行薄层扫描, 电流为 160 μA , 扫描电压为 80 kV, 全 ROI 选取股骨头软骨下承重区域, 使用系统自带的软件进行定量分析, 测量的骨组织参数包括: 骨体积分数 (bone volume fraction, BV/TV)、骨小梁厚度 (trabecular thickness, Tb.Th)、骨小梁间隙 (trabecular separation, Tb.Sp)、骨小梁数目 (trabecular number, Tb.N)。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 20.0 进行数据统计分析, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间数据使用 one-way ANOVA 分析, 两组间的差异采用 Tukey 法检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 hUMSC-Exos 的鉴定

hUMSC 显微镜下呈现典型梭形或纺锤形。hUMSC 在细胞培养的第 4 d, 细胞生长到达了高峰期; 在

细胞培养了 4 d 之后, 进入了平台期。细胞标志物鉴定 hUMSC, 实验结果显示, hUMSC 表达 CD44 (100%)、CD166 (99.6%)、CD73 (99.5%)、CD105 (97.5%)、CD90 (99.4%) 抗原, 阳性率达到 95% 以上。内皮细胞和造血细胞的表面标记基因: CD14 (1.1%)、CD19 (0.1%)、CD34 (0.5%)、CD45 (0.4%)、HLA-DR (0.2%), 阳性率低于 2%, 符合典型 hUMSC 细胞表征特征。从 hUMSC 进一步提取 Exos, 透射电子显微镜观测到 Exos 具有完整包膜的囊泡样结构。Western blot 结果显示, 与 Exos 特异性有关的抗原 CD9、CD63 和 CD81 均呈高表达。粒径分析可知, Exos 粒径为 (102.0 \pm 7.1) nm。透射电子显微镜和 Western blot 的结果表明, 所提取分离出来的 Exos, 符合 Exos 基本特征。

2.2 组织形态观察 (HE 染色)

空骨陷窝增多是 SANFH 的特征改变之一。HE 染色和分析可用于评估 Exos 干预后大鼠股骨头空骨陷窝和 SANFH 的发生情况 (图 1)。模型组大鼠可见空骨陷窝现象, 与模型组相比, 外泌体组空骨陷窝减少, 并且骨小梁未见明显狭窄或断裂。三组的空骨陷窝率: 模型组>外泌体组>空白对照组, 三组间的差异均有统计学意义 (P<0.05)。两两比较, 与空白对照组相比, 模型组大鼠股骨头空骨陷窝率显著升高 (P<0.05); 与模型组比较, 外泌体组大鼠股骨头组织空骨陷窝率显著降低 (P<0.05), 提示 Exos 可有效逆转激素性股骨头坏死的空骨陷窝增多。

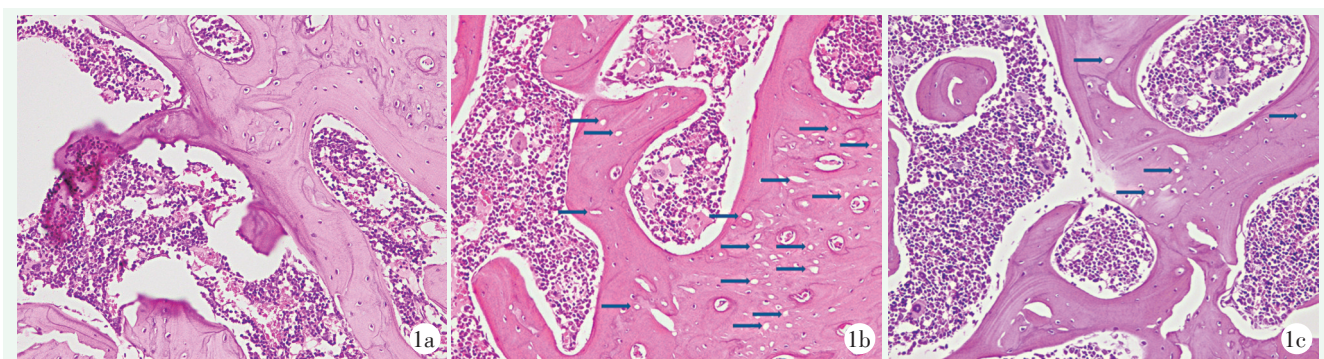


图 1 三组大鼠股骨头组织切片 (HE, $\times 400$) (箭头所示为空骨陷窝) 1a: 空白对照组, 未见空骨陷窝 1b: 模型组, 可见大量空骨陷窝, 提示典型骨坏死表现 1c: 外泌体组, 可见少量空骨陷窝, 提示骨坏死表现较模型组好转

2.3 TUNEL 染色观察细胞凋亡

通过 TUNEL 染色, 评估 Exos 干预后大鼠股骨头成骨细胞凋亡情况, 以细胞染色棕色判定为凋亡细胞 (图 2)。成骨细胞凋亡率进行统计 (表 1), 成骨细胞凋亡率: 模型组>外泌体组>空白对照组, 三组间的

差异均有统计学意义 (P<0.05)。两两比较, 与空白对照组相比, 模型组大鼠成骨细胞凋亡率显著升高 (P<0.05), 与模型组比较, 外泌体组大鼠成骨细胞凋亡率显著降低 (P<0.05), 提示 Exos 可有效减少 GCs 诱导的成骨细胞凋亡。

表 1 三组大鼠检测结果比较

指标	空白对照组 (n=12)	模型组 (n=12)	外泌体组 (n=12)	P 值
股骨头陷窝空泡率 (%)	2.3±1.2	38.7±2.9	11.6±2.5	<0.001
Tunel 染色阳性率 (%)	6.2±2.1	42.2±3.8	16.1±3.4	<0.001
Micro CT 检测				
BV/TV (%)	0.8±0.2	0.2±0.1	0.6±0.1	<0.001
Tb.N (1/mm)	6.8±1.2	2.2±1.1	4.3±1.3	<0.001
Tb.Th (mm)	0.8±0.2	0.2±0.1	0.4±0.1	<0.001
Tb.Sp (mm)	0.1±0.0	0.3±0.0	0.2±0.0	<0.001

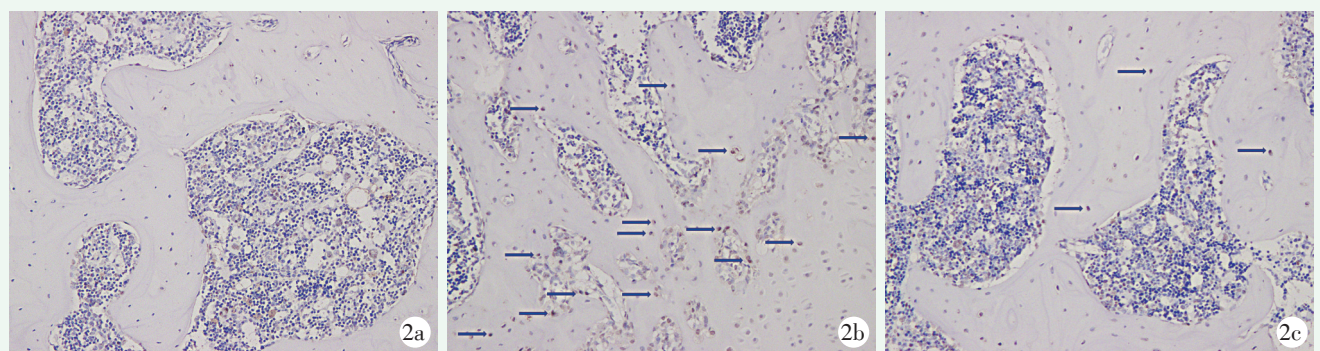


图 2 三组大鼠股骨头组织切片 TUNEL 染色结果 (×200) (箭头所示为凋亡成骨细胞) 2a: 空白对照组, 未见成骨细胞凋亡 2b: 模型组, 可见大量成骨细胞凋亡, 提示典型骨坏死表现 2c: 外泌体组, 可见少量成骨细胞凋亡, 提示成骨细胞凋亡较模型组好转

2.4 Micro CT 检测

通过 Micro CT 扫描和分析大鼠股骨头微观结构 (图 3)。空白对照组的股骨头形态无异常。模型组显示股骨头内部结构紊乱, 骨小梁稀疏, 外泌体组结构无显著异常。三组的 BV/TV、Tb.Th、Tb.Sp 和 Tb.N 量化结果如表 1 所示, 三组大鼠四项指标的差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。与空白对照组相比, 模型组

大鼠的 BV/TV、Tb.Th、Tb.N 数目均显著降低 ($P<0.05$), 而 Tb.Sp 显著升高 ($P<0.05$); 与模型组比较, 外泌体组大鼠的 BV/TV、Tb.Th、Tb.N 数目均显著升高 ($P<0.05$), 而 Tb.Sp 显著降低 ($P<0.05$), 结果提示, Exos 可有效改善 GCs 破坏的大鼠股骨头微观结构。

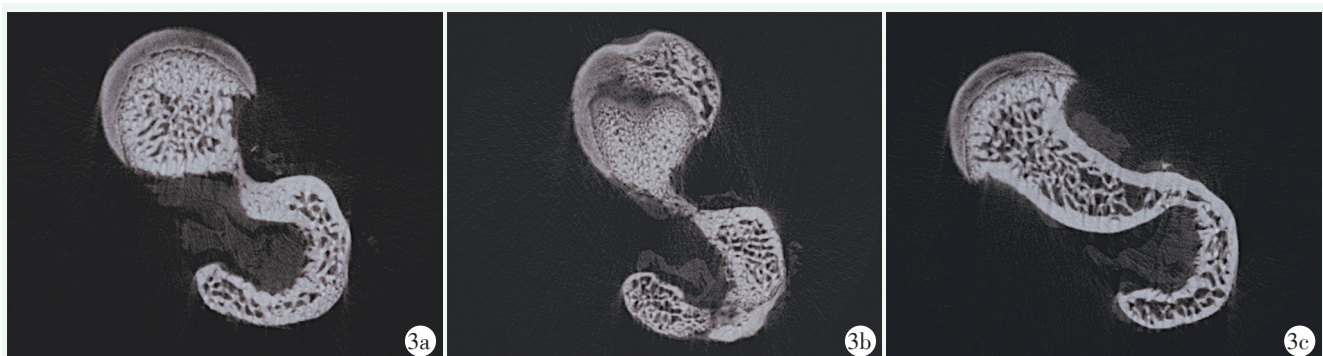


图 3 三组大鼠股骨头 Micro CT 检查结果 3a: 空白对照组, 股骨头内部结构、形态正常 3b: 模型组, 股骨头内部结构紊乱, 骨小梁稀疏 3c: 外泌体组, 股骨头结构无显著异常

3 讨论

自 GCs 在临床广泛应用以来, SANFH 已由少见

病转变为多发病和常见病。使用 GCs 人群中约 13% 可发生 SANFH, 本病恢复困难、致残率高, 引起了骨科领域的广泛关注^[16]。SANFH 患者早期尚无有效

的非手术治疗方法,最终需全髋关节置换术,但THA置入物的使用寿命有限,远期疗效并不理想,并且存在假体松动、假体磨损、关节僵硬(活动受限)等不良因素^[17]。因此,在疾病的早期采取积极的治疗非手术方式来缓解甚至治愈此病极其重要。该研究表明,hUCMSC-Exos可通过增强成骨细胞抗凋亡作用,防治GCs诱导的大鼠SANFH。

近年来的研究表明,MSC所发挥治疗作用在很大程度上是由其分泌的Exos实现的。研究表明,Exos在心、肺、肾、脑等组织器官的损伤修复中发挥着重要作用。例如,Exos对心脏、肾脏等组织缺血再灌注损伤有抗氧化、抗炎和抗凋亡的保护作用^[18]。Chen等^[19]研究发现Exos可以通过抑制细胞凋亡、抑制炎症反应,从而减轻肝脏缺血再灌注损伤。与MSC相比,Exos表现出与MSC相似的功能,并且没有肿瘤进展、免疫排斥和血栓形成等限制,有望成为细胞疗法理想替代品。Exos在运动系统疾病的防治效果也十分理想。Zhu等^[20]研究结果表明,骨髓间充质干细胞分泌的Exos可增强成骨细胞迁移,诱导成骨分化并增强成骨基因表达。在骨关节炎防治中,Exos可以通过抑制关节局部炎症反应,并促进软骨再生和修复,有效改善临床症状,防治骨关节炎进展^[21]。但目前为止,仍不清楚hUCMSC-Exos是否可以对SANFH发挥有益作用。鉴于hUMSC来源丰富,且脐带中干细胞含量更多,因此hUMSC-Exos也就更为充足,基于hUMSC相比其他种类干细胞具有更强的成骨能力和抗炎、抗氧化应激能力^[22],因此作者猜测在防治大鼠早期SANFH方面,hUMSC-Exos的效果可能更为理想。

本研究中使用GCs诱导SANFH大鼠模型。Micro CT可清楚显示骨小梁微观结构,反映骨量变化和骨结构的完整性,是目前评价骨微观结构最好的方法^[23],与对照组比较,模型组BV/TV、Tb.N、Tb.Th均降低,Tb.Sp升高。结合TUNEL染色检测显示大鼠股骨头细胞凋亡增多,HE染色显示严重骨小梁空骨陷窝情况,符合严重骨坏死标准,提示造模成功。虽然Exos具有如此广泛的生物学功能,但是hUCMSC-Exos在SANFH中发挥的作用尚不清楚。在本研究中,通过在大鼠中构建SANFH模型,且给予hUCMSC-Exos干预,研究hUCMSC-Exos对本病的防治作用。相比模型组,hUCMSC-Exos组骨小梁形态和骨组织完整性较好,存在空骨陷窝和细胞凋亡,但显著低于模型组。hUCMSC-Exos可明显改善ONFH大鼠股骨头的微观结构,减少细胞凋亡,在GCs诱

导骨坏死过程中,hUCMSC-Exos减少了GCs诱导骨小梁减少和骨量丢失,使骨小梁数量、形态等均趋近正常。上述结果证明,hUCMSC-Exos通过减少成骨细胞凋亡,有效减轻GCs诱导SANFH模型中的骨组织损伤,预防SANFH发生。

综上所述,研究首次发现了hUCMSC-Exos防治GCs诱导的大鼠SANFH,这种作用可能与抑制成骨细胞凋亡有关,具体调控机理仍需进一步研究探索,hUCMSC-Exos有望成为SANFH治疗方案的新选择。

参考文献

- [1] 谭振,康鹏德,谢小伟,等.雷奈酸锶对大鼠激素性股骨头坏死的作用及其机制研究[J].中国矫形外科杂志,2015,23(1):70-76.
- [2] 孙庆鹏,皮红林,何继文,等.EZH2抑制剂GSK126对激素性股骨头坏死骨髓间充质干细胞增殖的影响[J].中国矫形外科杂志,2018,26(23):2183-2188.
- [3] Xu J, Gong H, Lu S, et al. Animal models of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head—a comprehensive research review up to 2018 [J]. *Int Orthop*, 2018, 42 (7): 1729-1737.
- [4] Tan B, Li W, Zeng P, et al. Epidemiological study based on China osteonecrosis of the femoral head database [J]. *Orthop Surg*, 2021, 13 (1): 153-160.
- [5] Kuang MJ, Zhang KH, Qiu J, et al. Exosomal miR-365a-5p derived from HUC-MSCs regulates osteogenesis in GIONFH through Hippo signaling pathway [J]. *Mol Ther Nucl Acids*, 2020, 23: 565-576.
- [6] Liebig BE, Kisiday JD, Bahney CS, et al. The platelet-rich plasma and mesenchymal stem cell milieu: a review of therapeutic effects on bone healing [J]. *J Orthop Res*, 2020 38 (12): 2539-2550.
- [7] Chu DT, Phuong TNT, Tien NLB, et al. An update on the progress of isolation, culture, storage, and clinical application of human bone marrow mesenchymal stem/stromal cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (3): 708.
- [8] 舒鹏,程耀锋,毛瑞琪,等.外泌体应用于早期股骨头坏死防治的研究进展[J].中国矫形外科杂志,2019,27(20):1891-1895.
- [9] Fan XL, Zhang Y, Li X, et al. Mechanisms underlying the protective effects of mesenchymal stem cell-based therapy [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77 (14): 2771-2794.
- [10] Pashoutan Sarvar D, Shamsasenjan K, Akbarzadehlaleh P. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: new opportunity in cell-free therapy [J]. *Adv Pharmaceut Bull*, 2016, 6 (3): 293-299.
- [11] Kuang MJ, Huang Y, Zhao XG, et al. Exosomes derived from Wharton's jelly of human umbilical cord mesenchymal stem cells reduce osteocyte apoptosis in glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head in rats via the miR-21-PTEN-AKT signalling pathway [J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15 (9): 1861-1871.
- [12] Zhao T, Sun F, Liu J, et al. Emerging role of mesenchymal stem cell-derived exosomes in regenerative medicine [J]. *Curr Stem*

- Cell Res Ther, 2019, 14 (6) : 482-494.
- [13] Vizoso FJ, Eiro N, Cid S, et al. Mesenchymal stem cell secretome: toward cell-free therapeutic strategies in regenerative medicine [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18 (9) : 1852.
- [14] 寇龙威, 郭珈宜, 李峰, 等. 外泌体在修复骨关节炎软骨损伤中的应用 [J]. 中国矫形外科杂志, 2020, 28 (22) : 2073-2076.
- [15] Fang S, Li Y, Chen P. Osteogenic effect of bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes on steroid-induced osteonecrosis of the femoral head [J]. Drug Design Develop Ther, 2019, 13 (1) : 45-55.
- [16] Xu J, Gong H, Lu S, et al. Animal models of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head—a comprehensive research review up to 2018 [J]. Int Orthop, 2018, 42 (7) : 1729-1737.
- [17] Hernigou P, Trousselier M, Roubeineau F, et al. Stem cell therapy for the treatment of hip osteonecrosis: a 30-year review of progress [J]. Clin Orthop Surg, 2016, 8 (1) : 1-8.
- [18] Liu L, Jin X, Hu CF, et al. Exosomes derived from mesenchymal stem cells rescue myocardial ischaemia/reperfusion injury by inducing cardiomyocyte autophagy via AMPK and Akt pathways [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 43 (1) : 52-68.
- [19] Chen L, Xiang B, Wang X, et al. Exosomes derived from human menstrual blood-derived stem cells alleviate fulminant hepatic failure [J]. Stem Cell Res Ther, 2017, 8 (1) : 9.
- [20] Zhu Y, Jia Y, Wang Y, et al. Impaired bone regenerative effect of exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells in type 1 diabetes [J]. Stem Cells Transl Med, 2019, 8 (6) : 593-605.
- [21] Wang Y, Yu D, Liu Z, et al. Exosomes from embryonic mesenchymal stem cells alleviate osteoarthritis through balancing synthesis and degradation of cartilage extracellular matrix [J]. Stem Cell Res Ther, 2017, 8 (1) : 189.
- [22] Jin YZ, Lee JH. Mesenchymal stem cell therapy for bone regeneration [J]. Clin Orthop Surg, 2018, 10 (3) : 271-278.
- [23] Zheng LZ, Wang JL, Kong L, et al. Steroid-associated osteonecrosis animal model in rats [J]. J Orthop Transl, 2018, 13 (1) : 13-24.
- (收稿:2022-03-12 修回:2022-10-08)
(同行评议专家: 李宏宇 郑 稼 曹 凯)
(本文编辑: 宁 桦)

读者 · 作者 · 编者

如何提高向本刊投稿的成功率

为了提高向本刊投稿的成功率, 避免稿件反复修改而延长刊用周期, 投稿前一定要认真研读本刊近期出版的杂志, 特别是应检索相关内容的文章, 并注意参考其内容。可登录《中国矫形外科杂志》官网 (<http://jxwk.ijournal.cn>) 点击“期刊浏览”栏目, 按提示阅读。在网站首页点击来稿要求, 即可查看最新的《中国矫形外科杂志》稿约, 在下载区查看 2021 年本刊各栏目样稿, 并按照稿约及样稿的要求书写。稿件格式一定要按拟投栏目的格式要求撰写, 字数、图表、参考文献要完全符合相应栏目要求。在投稿系统上传稿件的同时, 必须上传 2 个基本附加文件 (单位介绍信、学术诚信承诺书)。如有基金支持一定要标注清楚, 在读研究生、住院医师投稿必须要有导师或上级医师推荐信。

除以上附加文件外, 如作者能提供同行专家推荐意见 (2 名), 对文稿内容的科学性、创新性、实用性、可读性做出评价。可提升本刊来稿审评效率, 缩短审稿周期, 使优质稿件尽快发表。

以上附加文件的参考样式请登录《中国矫形外科杂志》官网 (<http://jxwk.ijournal.cn>) 首页下载专区下载。填写并签名或加印章后, 需制成 JPG 或 PDF 文件, 上传至本刊投稿系统, 或将原件快递至编辑部。必备文件齐全后, 本刊方对稿件进行处理。

投稿步骤如下:

(1) 点击网站左侧“作者登录”按钮。(2) 输入您已注册的账号及密码。(3) 如您不需要修改您的信息, 请点击下一步跳过。(4) 点击页面左侧“投稿”按钮。(5) 依次点击“下一步”及“已阅读并同意”。(6) 上传全文。(7) 在附件中上传单位介绍信、学术诚信承诺书、基金证明文件、导师推荐信 (适用于在读研究生)、上级医师推荐信 (适用于高级职称以下人员), 以及同行评议函 (限非本单位专家)。文中有图片时, 必须将每一个独立画面的图像文件, 以高清质量 (300dpi) 的 JPG 格式, 按在正文中的名称, 如: 1a, 1b, 3c 等命名文件, 在附件中同时上传。然后点击下一步。(8) 填写稿件基本信息, 完成投稿。

《中国矫形外科杂志》编辑部

2022 年 1 月 25 日