

· 基础研究 ·

不同剂量 rhBMP2 修复兔桡骨骨缺损的比较[△]魏彬^{1,2}, 黄景辉¹, 马腾¹, 夏冰¹, 李胜友¹, 郝一鸣¹, 郑毅¹, 高雪¹, 罗卓荆^{1*}

(1. 空军军医大学西京医院 骨科, 陕西西安 710000; 2. 武警湖北省总队医院, 湖北武汉 430000)

摘要: [目的] 利用兔桡骨临界骨缺损模型, 研究不同剂量的重组人骨发生蛋白 2 (recombinant human bone morphogenetic protein-2, rhBMP-2) 对骨缺损修复的量效关系。[方法] 将 36 只新西兰白兔建立单侧桡骨骨缺损模型, 随机分为空白组、海绵空白组、自体骨组、低剂量组 (0.25 mg rhBMP-2)、中剂量组 (0.5 mg rhBMP-2)、高剂量组 (2.5 mg rhBMP-2), 每组 6 只。对骨缺损给予相应处理。分别于术后 4、8 周, 行 X 线检查、MicroCT 检查和组织学观察评估。[结果] 与术后第 4 周相比, 8 周时各组 Lane Sandhu X 线评分均增加, 其中, 空白组和海绵空白组两个时间点间差异无统计学意义 ($P>0.05$), 而自体骨组、低、中、高剂量组的两时间点间差异有统计学意义 ($P<0.05$)。相应时间点, Lane Sandhu X 线评分由低至高均为空白组<海绵空白组<低剂量组<自体骨组<中剂量组<高剂量组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。与术后 4 周相比, 8 周时 6 组 MicroCT 检测的骨矿密度 (bone mineral density, BMD) 和骨小梁数目 (trabecular number, Tb.N) 均增加, 其中, 低、中、高剂量组的两时间点间差异有统计学意义 ($P<0.05$)。相应时间点, BMD 和 Tb.N 均由低至高均为: 低剂量组<中剂量组<高剂量组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。组织学观察表明, 骨缺损新生骨的成熟度呈 rhBMP-2 剂量依赖性变化。[结论] 在 0.25~2.5 mg 的剂量范围内, rhBMP-2 对兔桡骨临界骨缺损的骨修复效果呈剂量依赖性。

关键词: 兔, 临界骨缺损, 人重组骨形态发生蛋白-2, 明胶海绵, 骨修复

中图分类号: R683.41

文献标志码: A

文章编号: 1005-8478 (2023) 11-1018-06

Comparison of different doses of rhBMP2 used for repairing radial bone defect in rabbit // WEI Bin^{1,2}, HUANG Jing-hui¹, MA Teng¹, XIA Bing¹, LI Sheng-you¹, HAO Yi-ming¹, ZHENG Yi¹, GAO Xue¹, LUO Zhuo-jing¹. 1. Department of Orthopedics, Xijing Hospital, Air Force Military Medical University, Xi'an 710000, China; 2. Hubei Hospital of Armed Police Force, Wuhan 430000, China

Abstract: [Objective] To explore the dose-effect relationship of recombinant human morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) in the critical radius bone defect model in rabbit. [Methods] A total of 36 New Zealand white rabbits were randomly divided into blank group, sponge blank group, bone autograft group, low-dose group (0.25 mg rhBMP-2), medium-dose group (0.5 mg rhBMP-2) and high-dose group (2.5 mg rhBMP-2), with 6 rabbits in each group. After a 15 mm radius bone defect was made in rabbit, the corresponding bone defect treatments were conducted respectively. The X-ray check, Micro CT examination and histological observation were performed at 4 and 8 weeks postoperatively. [Results] Compared with those 4 weeks after surgery, Lane Sandhu X-ray scores increased in all groups at 8 weeks, which were not significantly different between the two time points in the blank group and sponge blank group ($P<0.05$), while statistically significantly different in the bone autograft group, low, medium and high dose groups ($P<0.05$). At the corresponding time points, Lane Sandhu X-ray scores ranked from low to high all as: blank group<sponge blank group<low dose group<bone autograft group<medium dose group<high dose group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Regarding Micro CT assay, the bone mineral density (BMD) and trabecular number (Tb.N) increased in all the 6 groups at 8 weeks compared with those at 4 weeks after surgery, which proved statistically significant between the two time points in the low-dose, medium-dose and high-dose groups ($P<0.05$). At the corresponding time points, BMD and Tb.N ranked from low to high as: low dose group<medium dose group<high dose group, which was statistically significant ($P<0.05$). In addition, the histological observation showed that the maturity of new bone was dose-dependent with rhBMP-2. [Conclusion] In the dose range of 0.25 mg to 2.5 mg, the bone repair outcome of rhBMP-2 in the critical radial bone defect is dose-dependent.

Key words: rabbit, critical bone defect, human recombinant bone morphogenetic protein-2, gelatin sponge, bone repair

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2023.11.11

△基金项目: 战创损伤修复技术与器械研究项目 (编号: AWS17J004-02)

作者简介: 魏彬, 硕士研究生, 研究方向: 脊柱外科, (电话) 15927035855, (电子信箱) 15927035855@163.com

* 通信作者: 罗卓荆, (电话) 029-84775298, (电子信箱) zhuojingl@163.com

尽管骨组织再生能力较强,但严重粉碎性骨折、骨肿瘤导致的长骨大段骨缺损却很难靠骨组织自身完全修复,临床上常以自体髂骨的骨移植作为治疗的金标准^[1, 2]。但由于自体骨来源有限及供骨区术后疼痛、炎症等副作用导致这一方法难以广泛应用于大段骨缺损的治疗^[3]。骨形态发生蛋白-2 (BMP-2)能有效诱导未分化的骨髓间充质细胞向成骨系细胞转化,促进骨细胞的生长增殖,是公认的具备诱导成骨作用的关键蛋白^[4-6]。自2002年起,重组人骨发生蛋白 (recombinant human bone morphogenetic protein-2, rhBMP-2)经美国食品药品监督管理局批准用于腰椎椎间融合术,随后于2004年作为自体移植物的替代物被证明可用于治疗胫骨骨折^[7]。相较椎体融合和骨折,长节段骨缺损的修复重建更难,一直是骨科面临的重大挑战^[8]。虽然近年来有研究应用含rhBMP-2的活性生物骨或复合rhBMP-2的 β -磷酸三钙支架修复了动物的长骨骨缺损^[9, 10],但鲜有研究阐明单独应用rhBMP-2修复大段骨缺损的有效剂量范围及其量效关系,这可能会阻碍以rhBMP-2治疗长骨大段骨缺损的临床应用与rhBMP-2骨组织工程支架研发。

兔桡骨的临界骨缺损模型是指兔桡骨中段制造15 mm的骨缺损区,在不进行特殊干预的情况很难自行愈合,该长度的骨缺损被定为临界值,且因为尺骨的支撑作用,无须对桡骨进行内固定,是目前使用较多动物骨缺损模型^[11]。本实验通过可吸收明胶海绵 (absorbable collagen sponge, ACS) 负载不同剂量的rhBMP-2来修复兔桡骨临界骨缺损,以此初步探索不同剂量rhBMP-2的修复兔桡骨临界骨缺损的有效剂量范围及其量效关系。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

选取24周龄雄性普通级新西兰白兔36只(骺板已闭),平均体重(2.5±0.3) kg,由中国人民解放军空军军医大学实验外科提供,已经通过动物实验伦理审批。将36只新西兰白兔建立单侧桡骨临界骨缺损模型,随机分为空白组、海绵组、自体骨组、低剂量组、中剂量组、高剂量组,每组6只。

1.2 植入物制备

将rh-BMP2产品以0.9%NaCl溶液配置成2.5、0.5、0.25 mg/ml 3个不同的浓度rhBMP-2。实验所用填充ACS规格为:35 mm×25 mm×5 mm,总体积=

4.37 cm³,术前放置在1 ml针筒20 min,用以塑形。手术开始时,以塑形完成的ACS吸附1 ml 3个不同浓度的rhBMP-2,并在室温下孵育15 min。

1.3 骨缺损建立与植入处理

实验动物予以2%戊巴比妥钠2 ml腹腔注射+0.5 ml盐酸赛拉嗪注射液肌肉麻醉成功后,在桡骨中段切开皮肤、皮下组织,钝性分离肌肉,显露桡骨,截取15 mm中段桡骨,用骨剥将周围骨膜刮除干净,以此方法制作单侧桡骨临界骨缺损模型。空白组:截骨后不做其他干预;海绵空白组:截骨造模后骨缺损区仅填充ACS;自体骨组:将截取的桡骨刮除骨膜后原位植入;低、中、高剂量组:分别以ACS负载0.25、0.5、2.5 mg的rhBMP-2植入骨缺损区。用丝线固定在附近的肌筋膜上。严密缝合切口,无菌辅料包裹,术后分笼饲养。

1.4 检测指标

X线检测与评分:分别于术后4、8周,各组取3只实验动物,摄术侧桡骨X线,观察比较各组骨缺损区骨痂生长等骨修复的大体情况,并通以Lane Sandhu X线评分作为各组骨修复情况的比较指标^[12]。Lane Sandhu X线评分包括骨形成(4分)、骨连接(4分)、骨塑性(4分)3个方面,包含11项评分内容,共计12分,其分值越高,代表骨缺损区骨修复越好。

MicroCT:术后第4、8周时间点,各组随机处死3只实验动物,收集术侧桡骨标本,并固定在10%多聚甲醛中48 h。将固定完成后的标本行MicroCT三维重建以进一步观察、比较各组骨缺损区新生骨及骨小梁的生成情况。用Micro-CT的Advanced Bone Analysis软件对6组标本骨缺损区新生骨的骨密度(bone mineral density, BMD)进行检测来比较各组新生骨中矿物质含量,对各剂量组骨新生小梁数目(trabecular number, TbN)行计量学分析来比较各剂量组新生骨小梁的多少^[13]。

组织观察:术后第4、8周,将在MicroCT检测时收集的3个剂量组标本固定在10%多聚甲醛溶液中48 h,用10%乙二胺四乙酸脱钙8周,标本脱钙完成后通过梯度乙醇溶液和100%丙酮溶液脱水处理,石蜡包埋,切片。行苏木精伊红(Hematoxylin-Eosin Staining, HE)染色,在×20倍物镜下观察各剂量组骨缺损区内新生骨的长入情况及成熟度。

1.5 统计学方法

采用SPSS 25.0软件对数据进行分析,显著性水平为 $P < 0.05$,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示;资料呈正态分

布时，两组间的比较采用独立样本 *t* 检验，多组间比较采用单因素方差分析，两两比较采用 *LSD* 法；资料呈非正态分布时，采用秩和检验； $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 X线检查及评分

术后第4周，空白组、海绵空白组的骨缺损区均无骨痂生成（图 1a, 1b）；自体骨组近、远侧骨折端的骨折线清晰（图 1c）。在各剂量组的骨缺损区均可见骨痂形成，低剂量组有少量骨痂自宿主骨向缺损区包绕，骨折线清晰（图 1d）；中剂量组有较多骨痂形成，近端骨折线可见，远端骨折线模糊（图 1e）；高剂量组有大量透射高亮状骨痂生成，密度与宿主骨相当，骨折线消失且有骨髓腔形成（图 1f）。术后第8周，

空白组与海绵空白组骨缺损区内部分可见少量较小骨痂形成（图 1g, 1h）；自体骨组移植骨与宿主骨结合部有少量低密度影，骨折线较4周时模糊（图 1i）。低剂量组有较多骨痂自宿主骨向骨缺损区中央包绕，部分骨折线可见（图 1j）；中剂量组可见骨痂包绕缺损区并形成骨桥接，骨折线消失，呈骨髓腔塑性改变（图 1k）；高剂量组的骨痂外周密度较4周时进一步提高，骨髓腔已通，部分皮质骨开始塑形（图 1l）。

Lane Sandhu X线评分结果见表1，与术后第4周相比，8周时各组评分均增加，其中，空白组和海绵空白组两个时间点间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，而自体骨组、低、中、高剂量组的两时间点间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。相应时间点，评分由低至高均为空白组 < 海绵空白组 < 低剂量组 < 自体骨组 < 中剂量组 < 高剂量组，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

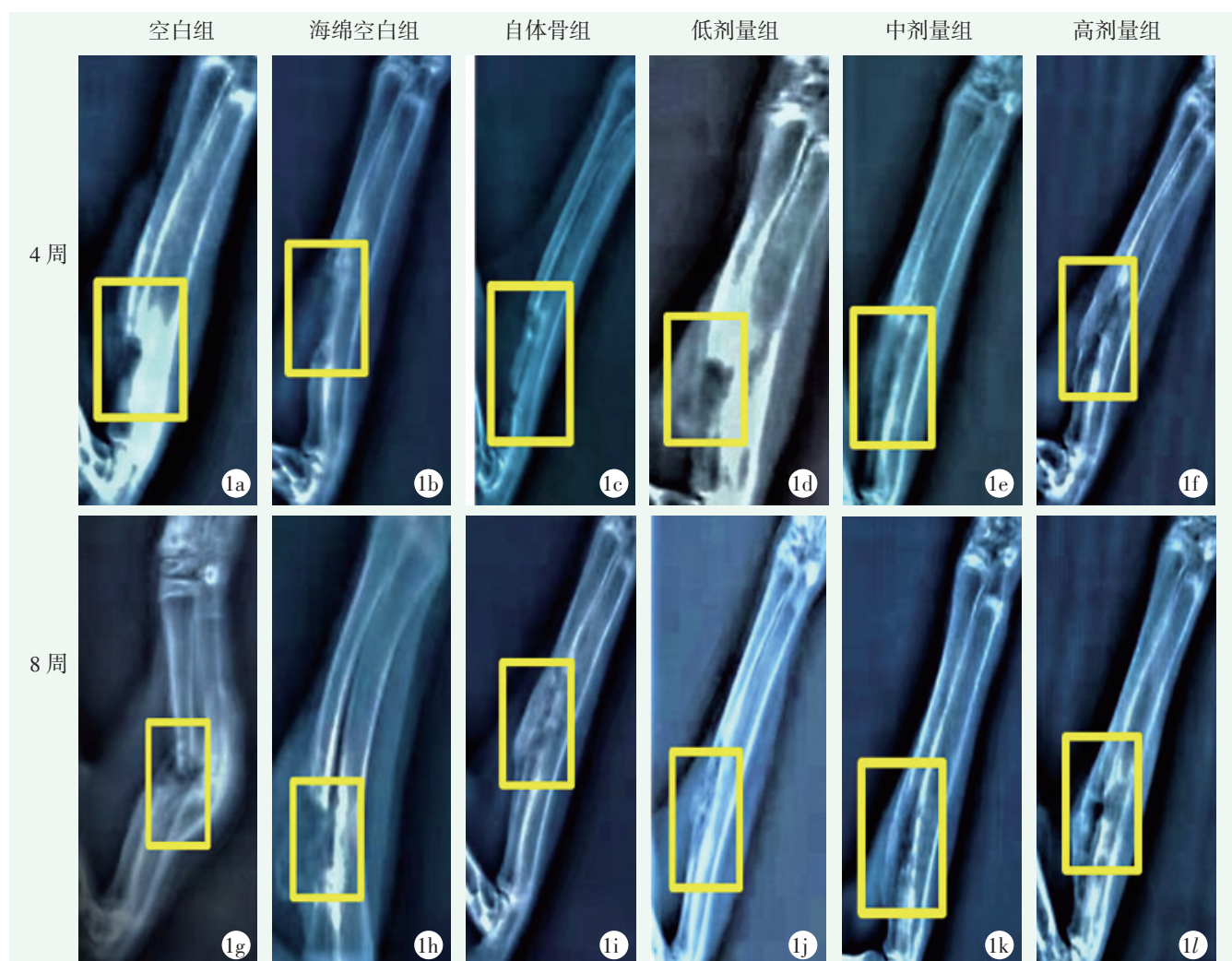


图1 X线检查所见 1a~1f: 术后4周 1g~1l: 术后8周，黄框为骨缺损区

表 1 6 组动物骨缺损区 X 线评分 (分, $\bar{x} \pm s$) 与比较

组别	4 周	8 周	P 值
空白组 (n=3)	0.3±0.6	0.7±0.6	0.519
海绵空白组 (n=3)	0.3±0.6	1.0±1.0	0.374
自体骨组 (n=3)	3.0±1.7	8.0±2.0	0.031
低剂量组 (n=3)	2.7±0.6	6.7±1.2	0.006
中剂量组 (n=3)	5.3±0.6	8.7±1.2	0.011
高剂量组 (n=3)	7.3±1.2	10.7±1.2	0.024
P 值	<0.001	<0.001	

2.2 MicroCT

术后第 4 周时, 空白组及海绵空白组的骨缺损区内均无新生骨形成, 未见骨小梁生成 (图 2a, 2b); 自体骨组近、远端与宿主骨结合处未见新生骨及骨小梁形成 (图 2c); 低剂量组的骨缺损区开始缩小, 其内可见部分新生骨形成, 四周散在分布少量骨小梁 (图 2d); 中剂量组的大部分骨缺损区内填充有部分连续的新生骨, 新生骨与宿主骨之间初步形成骨桥接 (图 2e); 高剂量组可见骨缺损区被大量致密连续的新生骨填充并与宿主骨形成牢固的骨桥接 (图 2f)。在术后 8 周时, 空白组及海绵空白组骨缺损区边缘出现少量新生骨组织, 未见骨小梁分布 (图 2g, 2h); 自体骨组与宿主骨结合处出现骨小梁, 但未形成骨痂

包绕 (图 2i); 各剂量组的新生骨进一步增多, 在高剂量组中有部分骨骼塑性改建趋势出现 (图 2j~2l)。

Micro CT 新生骨检测结果见表 2。与术后 4 周相比, 8 周时 6 组 BMD 和 Tb.N 均增加, 其中, 低、中、高剂量组的两时间点间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。相应时间点, BMD 和 Tb.N 均由低至高均为: 低剂量组 < 中剂量组 < 高剂量组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 呈现剂量依赖性增加。

表 2 骨缺损区新生骨 MicroCT 检测结果 ($\bar{x} \pm s$) 与比较

组别	4 周	8 周	P 值
BMD (mg/cm^3)			
空白组 (n=3)	263.8±37.0	292.4±18.6	0.298
海绵组 (n=3)	334.9±18.3	339.6±15.5	0.748
自体骨组 (n=3)	454.4±88.7	592.7±35.9	0.067
低剂量组 (n=3)	836.9±37.4	998.7±83.7	0.038
中剂量组 (n=3)	962.2±44.6	1 212.5±50.5	0.003
高剂量组 (n=3)	1 201.7±165.8	1 519.1±82.0	0.041
P 值	<0.001	<0.001	
Tb N (n/mm^2)			
低剂量组 (n=3)	1.8±0.1	2.3±0.2	0.010
中剂量组 (n=3)	2.3±0.2	2.9±0.3	0.024
高剂量组 (n=3)	2.9±0.1	3.5±0.3	0.048
P 值	<0.001	0.004	

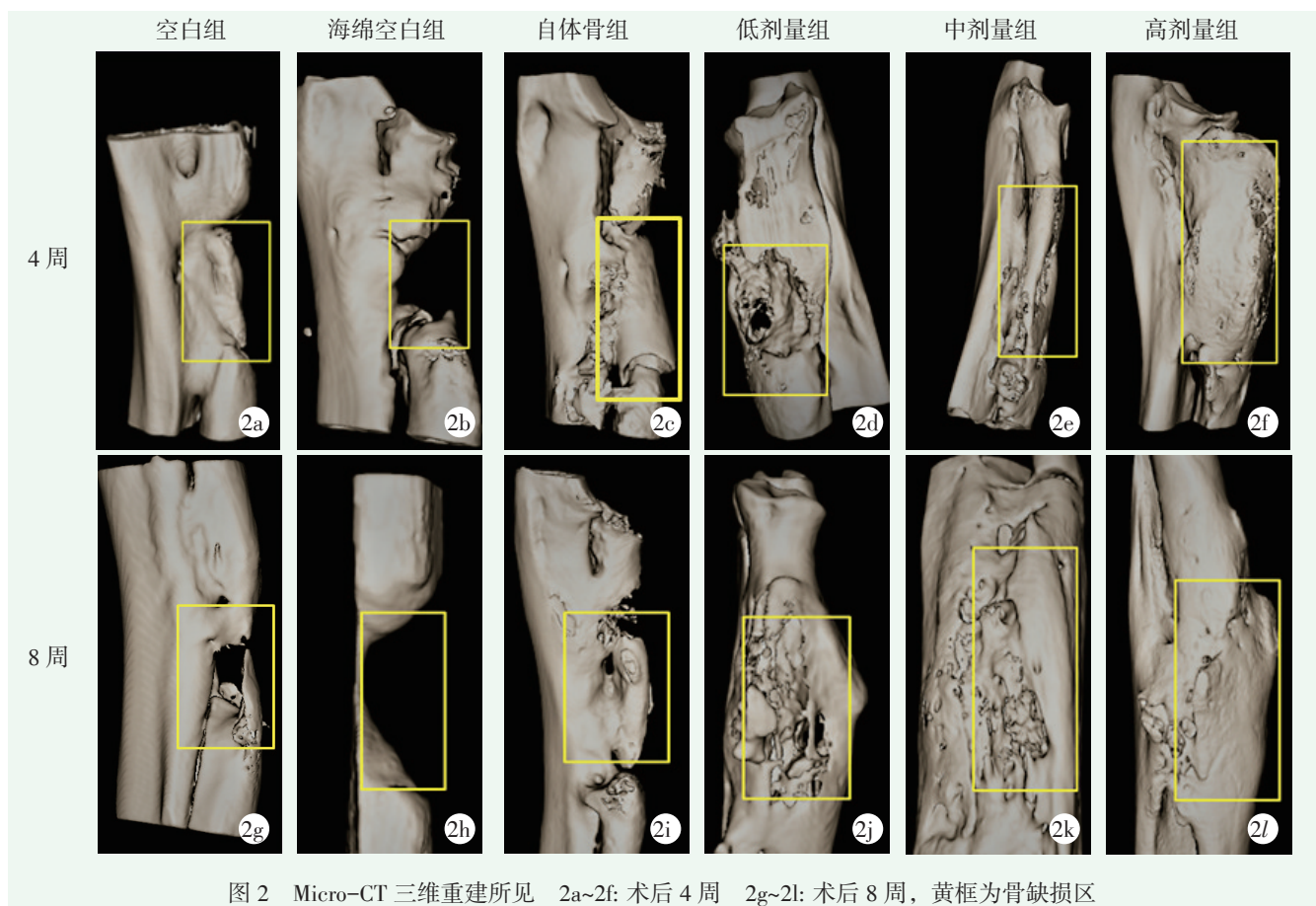


图 2 Micro-CT 三维重建所见 2a~2f: 术后 4 周 2g~2l: 术后 8 周, 黄框为骨缺损区

2.3 组织观察

术后 4 周，低剂量组中成熟骨与软骨细胞镶嵌分布，有部分骨小梁零散分布，未见明显编织骨及哈弗斯管状结构（图 3a）；中剂量组可见较规则的骨小梁结构及较多软骨细胞，未见编织骨（图 3b）；高剂量组可见成熟骨面积较其他剂量组多，仍有少量软骨细

胞在向成熟骨转化，有部分编织骨及哈弗斯管出现（图 3c）。术后 8 周时，低剂量组有较多成熟骨质形成且局部有少量哈弗斯管（图 3d）；中剂量组可见较多编织骨形成及骨小梁开始与皮质骨连接（图 3e）；高剂量组视野下以成熟的编织骨居多，且有大量哈弗斯管状结构出现（图 3f）。

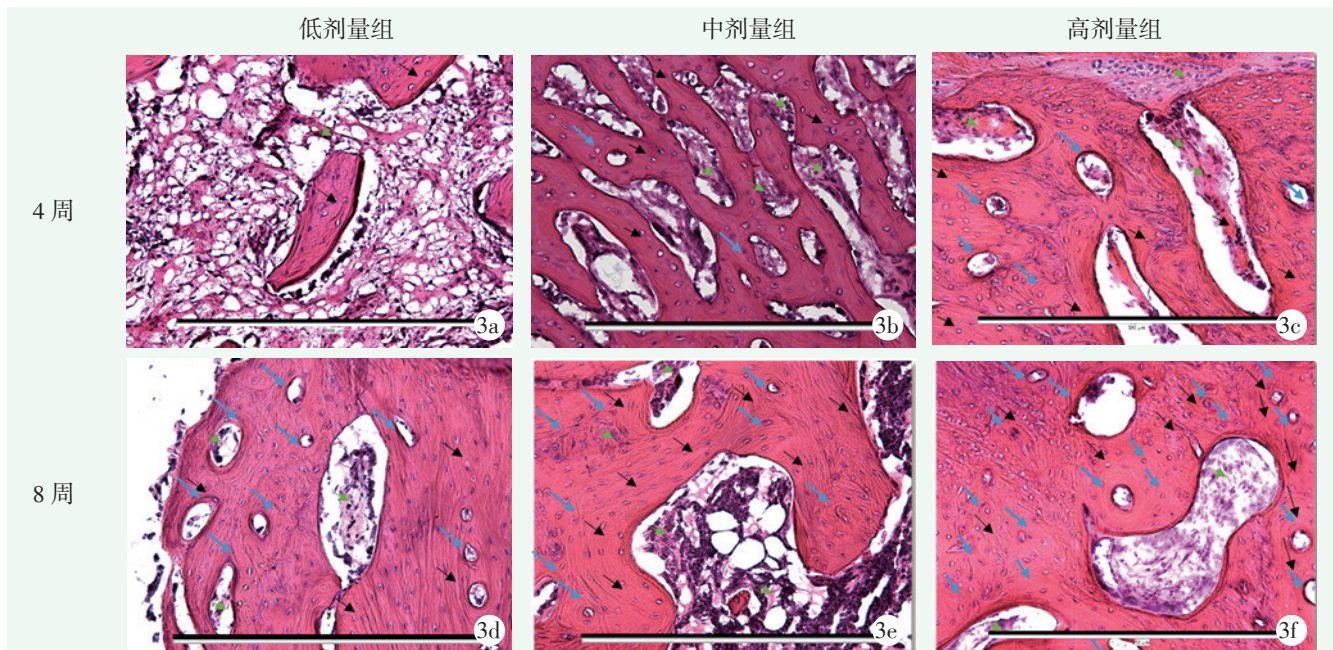


图 3 组织学观察所见 (HE, ×100) 3a~3c: 术后 4 周 3d~3f: 术后 8 周, 黑色箭头标记成熟骨组织, 绿色箭头标记骨组织周围趋化聚集的细胞, 蓝色箭头标记哈弗斯管

3 讨论

BMP-2 是骨折修复过程中必不可少的关键蛋白，它与位于骨髓间充质干细胞表面的 BMP 受体形成复合物，通过酸化部分 Smad 蛋白，在细胞核内上调 RUNX2 等基因的表达，诱导骨髓间充质干细胞、脂肪间充质干细胞等骨祖细胞向成骨细胞系分化，促进骨组织修复^[14, 15]。BMP-2 通过与其受体结合的方式来激发级联反应进而诱导成骨分化，其诱导成骨能力是具有剂量依赖性的。Marissa 等^[16]以脂肪来源的微血管碎片复合梯度剂量的 rhBMP-2 联合内固定手术治疗小鼠股骨骨缺损，发现 10 μg rhBMP-2 高剂量组较 2 μg rhBMP-2 低剂量组骨修复效果更好。在 2002 年，Govender 等^[17]开展一项包含 450 例开放性胫骨骨折病例的前瞻性队列研究，用以评估不同剂量 rhBMP-2 联合髓内钉内固定术对开放性胫骨骨折的有效性及其安全性，其结果发现：未接受 rhBMP-2 治疗的对照组、接受 6 mg rhBMP-2 治疗的低剂量组及

接受 12 mg rhBMP-2 治疗的高剂量组接受二次手术干预的患者占比分别为 46%、37%和 26%，高剂量治疗组的患者骨折愈合时间较低剂量治疗组明显缩短。这些研究与本研究结果在趋势上是一致的，证明了 rh-BMP-2 的骨修复能力与其使用剂量呈正相关性。此外，与上述研究相比，本研究使用软质胶原类材料 ACS 作为 rhBMP-2 的递送载体来修复兔桡骨临界骨缺损，排除了内固定装置与其他外源性生物活性因子的成骨作用，这对 rhBMP-2 的骨修复能力提出更高的要求。从本研究结果可以发现：即使单独应用 rh-BMP-2 对长骨大段骨缺损也具有可靠的修复效果。徐建民等^[18]的研究发现单独应用 BMP-2 能有效修复兔桡骨骨折，这与 BMP-2 能促进转化生长因子及血管内皮生长因子的表达有关，这些内源性生物活性因子与 BMP-2 相互协作，最终共同促进骨折愈合。

由于生物利用度的差异，应用位置的不同、骨龛微环境等因素都可能影响到 BMP-2 的最终效用^[7, 19]，这就导致不同应用场景下 BMP-2 的有效剂量范围不同。Mumcuoglu 等^[20]通过水凝胶复合

BMP-2 修复小鼠颅骨临界骨缺损的研究也发现 BMP-2 在 1~10 μg 剂量范围内的骨修复能力呈剂量依赖性, 最低有效剂量为 0.2 μg 。Lytle 等^[21] 的荟萃分析则认为: 在椎体融合术中, rhBMP-2 最小有效剂量为 1.28 mg。Pelaez^[22] 以梯度剂量 rhBMP-2 联合钛笼修复小鼠颅骨临界骨缺损的研究发现: rhBMP-2 的骨修复能力在 1.25~2.5 μg 剂量范围内呈剂量依赖性, 当剂量水平超过 2.5 μg 时, 骨缺损区新生骨组织的骨密度并无明显改变。本研究则发现单独应用 rhBMP-2 修复兔桡骨临界骨缺损的有效剂量范围是 0.25~2.5 mg, 明确了 rhBMP-2 修复兔长骨大段骨缺损的效用剂量问题, 也为下一步 rhBMP-2 治疗大段骨缺损的临床应用及相关骨组织工程研发提供一些线索。

综上所述, 单独应用 rhBMP-2 能修复兔桡骨大段骨缺损, 其骨修复能力在 0.25~2.5 mg 剂量范围内呈剂量依赖性。

参考文献

- [1] Ichikawa K, Ohta Y, Mamoto K, et al. Local co-application of zoledronate promotes long-term maintenance of newly formed bone induced by recombinant human bone morphogenetic protein 2 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 480 (3): 314-320.
- [2] El Bialy I, Jiskoot W, Reza Nejadnik M. Formulation, delivery and stability of bone morphogenetic proteins for effective bone regeneration [J]. *Pharm Res*, 2017, 34 (6): 1152-1170.
- [3] Van der Stok J, Van Lieshout EMM, El-Massoudi Y, et al. Bone substitutes in the netherlands - a systematic literature review [J]. *Acta Biomaterialia*, 2011, 7 (2): 739-750.
- [4] Salazar VS, Gamer LW, Rosen V. BMP signalling in skeletal development, disease and repair [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2016, 12 (4): 203-221.
- [5] Kong Y, Zhao Y, Li D, et al. Dual delivery of encapsulated BMMSCs and BMP-2 improves osteogenic differentiation and new bone formation [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2019, 107 (10): 2282-2295.
- [6] 刘帅, 白伦浩. 转化生长因子超家族在骨性关节炎软骨细胞退变中的作用 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2021, 29 (2): 140-144.
- [7] James AW, Lachaud G, Shen J, et al. A review of the clinical side effects of bone morphogenetic protein-2 [J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2016, 22 (4): 284-297.
- [8] Zhang M, Matinlinna JP, Tsoi JKH, et al. Recent developments in biomaterials for long-bone segmental defect reconstruction: a narrative overview [J]. *Orthop Translat*, 2019, 22 (8): 26-33.
- [9] 邓立庆, 谭振, 谢小伟, 等. 含 rhBMP-2 活性生物骨修复山羊胫骨缺损的实验研究 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2016, 24 (2): 159-164.
- [10] Han SH, Jung SH, Lee JH. Preparation of beta-tricalcium phosphate microsphere-hyaluronic acid-based powder gel composite as a carrier for rhBMP-2 injection and evaluation using long bone segmental defect model [J]. *Biomater Sci Polym Ed*, 2019, 30 (8): 679-693.
- [11] Mellgren T, Trbakovic A, Thor A, et al. Guided bone tissue regeneration using a hollow calcium phosphate based implant in a critical size rabbit radius defect [J]. *Biomed Mater*, 2021, 16 (3): 35018.
- [12] 雷志雄, 程良才, 陈铁锋, 等. PHILOS 锁定钢板治疗对肱骨近端骨折患者 Lane-Sandhu 评分及肩关节活动度的影响 [J]. *中国医学创新*, 2018, 15 (11): 58-62.
- [13] 张玉凤, 王璐, 辜向东, 等. Mimics 与 Micro-CT 内置软件测量小鼠颅骨缺损骨再生的对比研究 [J]. *重庆医科大学学报*, 2015, 40 (2): 186-190.
- [14] Tsuji K, Bandyopadhyay A, Harfe BD, et al. BMP2 activity, although dispensable for bone formation, is required for the initiation of fracture healing [J]. *Nat Genet*, 2006, 38 (12): 1424-1429.
- [15] Katagiri T, Watabe T. Bone morphogenetic proteins [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2016, 8 (6): a021899.
- [16] Ruehle MA, Krishnan L, Vantucci CE, et al. Effects of BMP-2 dose and delivery of microvascular fragments on healing of bone defects with concomitant volumetric muscle loss [J]. *J Orthop Res*, 2019, 37 (3): 553-561.
- [17] Govender S, Csimma C, Genant HK, et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 for treatment of open tibial fractures: a prospective, controlled, randomized study of four hundred and fifty patients [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2002, 84 (12): 2123-2134.
- [18] 徐建民, 王兆朋, 王恒孝. 骨形态发生蛋白-2 在兔骨折愈合过程中的作用 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2016, 24 (10): 920-925.
- [19] Salhotra A, Shah HN, Levi B, et al. Mechanisms of bone development and repair [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21 (11): 696-711.
- [20] Mumcuoglu D, Fahmy-Garcia S, Ridwan Y, et al. Injectable BMP-2 delivery system based on collagen-derived microspheres and alginate induced bone formation in a time- and dose-dependent manner [J]. *Eur Cell Mater*, 2018, 35: 242-254.
- [21] Lytle EJ, Lawless MH, Paik G, et al. The minimally effective dose of bone morphogenetic protein in posterior lumbar interbody fusion: a systematic review and meta-analysis [J]. *Spine J*, 2020, 20 (8): 1286-1304.
- [22] Pelaez M, Susin C, Lee J, et al. Effect of rhBMP-2 dose on bone formation/maturation in a rat critical-size calvarial defect model [J]. *J Clin Periodontol*, 2014, 41 (8): 827-836.

(收稿:2022-06-22 修回:2022-12-16)
(同行评议专家: 张开亮 张立峰)
(本文编辑: 宁 桦)