

[DOI]10.12016/j.issn.2096-1456.2018.05.009

· 综述 ·

骨形成蛋白-2与碱性成纤维细胞生长因子联合应用于骨组织工程研究进展

林玮民, 陈苗, 胡琛 综述; 屈依丽 审校

口腔疾病研究国家重点实验室 国家口腔疾病临床医学研究中心 四川大学华西口腔医院修复科, 四川 成都 (610041)

【摘要】 骨形成蛋白-2 (bone morphogenetic protein-2, BMP-2) 与碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) 为自然骨修复中两种重要信号分子, 被广泛应用于骨组织工程领域。前者可促进成骨细胞的成熟矿化, 后者有显著的促细胞分裂及促血管形成作用, 二者在骨形成时作用机制不同, 有潜在的互补作用。相对于使用单一生长因子, 在骨组织工程中联合应用剂量恰当的 BMP-2 与 bFGF 可协同促进新骨的形成, 具有更好的修复效果, 然而联合应用 BMP-2 与 bFGF 的适宜剂量范围还有待进一步明确; 有关 BMP-2 与 bFGF 之间相互协同和拮抗的机制, 及药物控释系统如何更好地模拟自然骨修复过程中生长因子释放模式仍有待研究。

【中图分类号】 R781.5 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2018)05-0325-05

【引用著录格式】 林玮民, 陈苗, 胡琛, 等. 骨形成蛋白-2 与碱性成纤维细胞生长因子联合应用于骨组织工程研究进展[J]. 口腔疾病防治, 2018, 26(5): 325-329.

【关键词】 骨形成蛋白-2; 碱性成纤维细胞生长因子; 生长因子; 联合应用; 骨组织工程; 骨再生

Progress in the combined application of bone morphogenetic protein-2 and basic fibroblast growth factor in bone tissue engineering LIN Weimin, CHEN Miao, HU Chen, QU Yili. State Key Laboratory of Oral Diseases & National Clinical Research Center for Oral Diseases & Dept. of Prosthodontics, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Corresponding author: QU Yili, Email: qqyili@126.com; Tel: 0086-28-85501437

【Abstract】 Bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) and basic fibroblast growth factor (bFGF) are two important signaling molecules for natural bone repair that are widely applied in the field of bone tissue engineering. BMP-2 accelerates the maturation and mineralization of osteoblasts, and bFGF exhibits significant effects on the promotion of cell division and angiogenesis. The osteogenesis mechanism of BMP-2 differs from that of bFGF, leading to a potentially complementary role between the two proteins. The use of a suitable dose of bFGF in combination with BMP-2 in bone tissue engineering synergistically promotes the formation of new bone and exhibits a better repair effect than either single growth factor. However, the suitable dose range of BMP-2 and bFGF in combination should be further clarified. The mechanism of the synergism and antagonism between BMP-2 and bFGF must be further delineated, and a drug delivery system that better simulates the growth factor release pattern during natural bone repair remains to be designed.

【Key words】 Bone morphogenetic protein-2; Basic fibroblast growth factor; Growth factors; Combined application; Bone tissue engineering; Bone regeneration

天然骨组织主要由羟基磷灰石(约65%)和 I

型胶原纤维(约34%)复合构成^[1], 临床上修复骨缺损的常用手段包括自体/异体骨移植和人工骨替代材料填充等, 而随着组织工程概念的提出, 包含生长因子、种子细胞及支架材料三类要素的组织工程骨在骨缺损的修复中具有良好的前景。生长因子具有调控缺损区域细胞增殖的作用, 对

【收稿日期】 2017-11-17; **【修回日期】** 2017-12-03

【基金项目】 国家自然科学基金(81671023); 四川省科技创新苗子工程计划(17-YCG053)

【作者简介】 林玮民, 医师, 学士, Email: 215783805@qq.com

【通信作者】 屈依丽, 副教授, 博士, Email: qqyili126@com

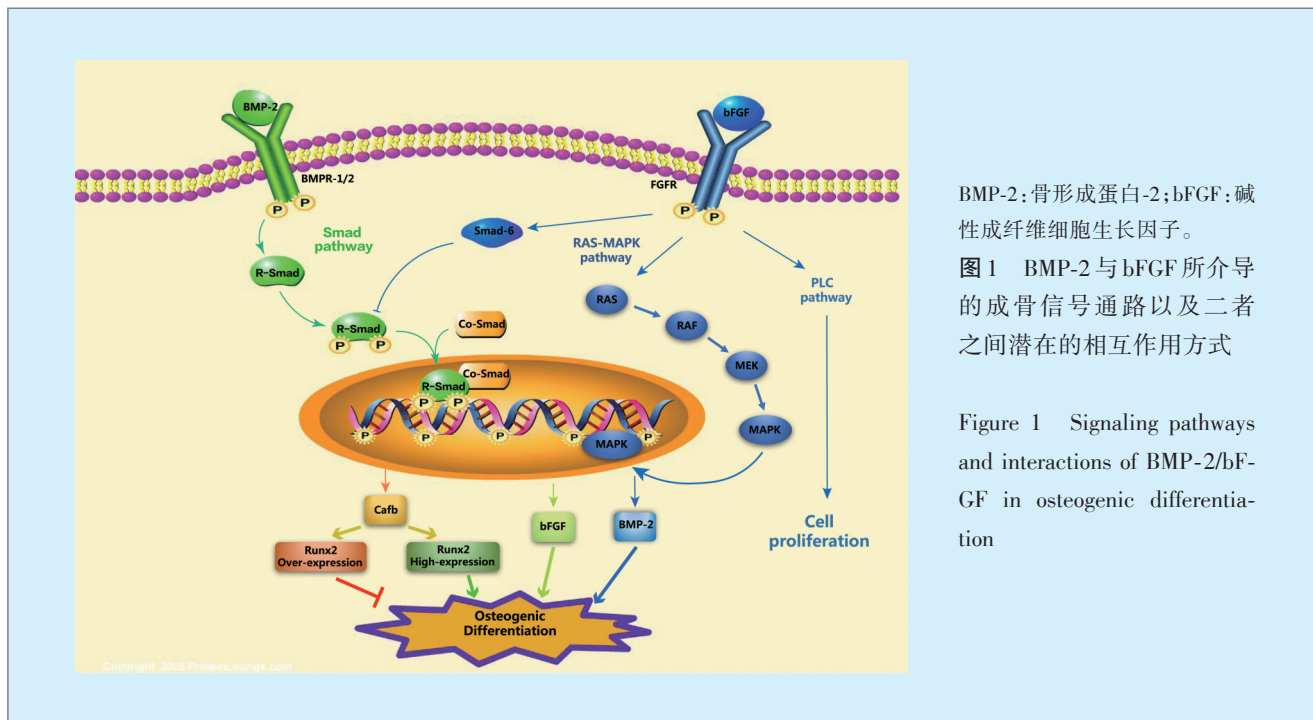
于通过骨组织工程修复骨缺损具有重要意义。骨形成蛋白-2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2)属于转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)超家族成员,由于其显著的促间充质干细胞迁移和成骨分化的效果,被普遍认为是骨修复中最有前景的诱导因子,广泛应用于骨缺损修复^[2]。然而,局部过量使用BMP-2会导致异位性钙化,引起疼痛、肿胀及神经功能缺损等,故单一使用难以取得理想的修复效果^[3-4]。碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)作为一种有效的促有丝分裂及促血管再生因子,可显著促进多种类型细胞的增殖及迁移,如血管内皮细胞及成骨细胞^[5]。对于骨组织修复再生来说,新血管的生成具有重要的意义^[6],新生血管可以为干细胞、免疫细胞的迁移提供通道,并为新生组织提供必要的氧和营养。由于BMP-2主要促进成骨细胞的成熟与矿化,bFGF则有促进细胞分裂及血管化作用,在骨修复过程中二者侧重不同,具有潜在的互补作用,近年来已有很多关于

在骨修复中联合应用BMP-2与bFGF的研究报道,但目前尚未有关于以上两种生长因子联合应用时的合适剂量、比例及控释时间研究相关报道。本文就近年来在骨组织工程中联合应用BMP-2与bFGF的相关研究进展进行综述。

1 BMP-2与bFGF对成骨作用机制

BMPs信号通路与FGFs信号通路之间的相互作用机制相对较为复杂。一般认为BMP-2通过BMP/Smad通路促进成骨分化。BMP-2通过先后结合并活化其II型受体和I型受体,进而激活下游两条信号转导通路:经典Smad通路^[7]和非经典MAPK通路^[8]。

bFGF激活成骨细胞的通路则主要包括磷酸蛋白激酶(protein kinase C, PKC)通路^[8],丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)通路^[9]等。联合应用BMP-2与bFGF时,二者下游信号通路相互影响,对于成骨分化既有促进作用,又可有抑制作用,二者潜在相互作用机制如图1所示。



BMP-2:骨形成蛋白-2;bFGF:碱性成纤维细胞生长因子。
图1 BMP-2与bFGF所介导的成骨信号通路以及二者之间潜在的相互作用方式

Figure 1 Signaling pathways and interactions of BMP-2/bFGF in osteogenic differentiation

1.1 促进作用

bFGF可以促进成骨细胞中BMP-2的表达并明显提高骨形成蛋白受体-1β的表达,从而上调BMP信号通路^[10-11]。bFGF表达缺陷对BMP-2介导的Smad1/5/8的磷酸化未有明显影响,但会明显减少pSmad1/5/8与Runx2的核定位,并降低Runx2的表

达,而bFGF预处理可一定程度逆转Runx2表达的降低,说明bFGF在BMP/Smad/Runx2信号通路中具有重要的作用^[12]。除BMP/Smad通路外,敲除成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)基因小鼠BMP-2介导的p42/44 MAPK通路下调^[13],表明FGFs也可通过调节BMP-2介导的p42/44 MAPK通

路进而影响成骨细胞的分化。Jiang等^[14]通过BMP-2通路拮抗剂Noggin抑制BMP-2通路,证明了BMP通路的下调可阻碍FGF通路所介导的成骨细胞晚期的分化,降低碱性磷酸酶、骨钙素等的表达。

血运重建同样是骨缺损修复中一个重要过程,联合应用BMP-2与bFGF可促进人脐静脉内皮细胞的增殖、迁移及小管形成,提高基质金属蛋白酶-2的活性^[15],bFGF还可以促进细胞分泌血管内皮生长因子从而加快缺损区域血管化过程^[11],促进间充质干细胞增殖、分泌生长因子及成血管分化^[16]。体内研究结果同样证明联合应用BMP-2与bFGF可促进植骨区域的血管形成^[17]。

1.2 抑制作用

尽管BMP-2及bFGF均能促进Runx2的表达,但Runx2的高度表达可能不利于成骨细胞的进一步成熟。过表达Runx2的转基因小鼠表现出骨骼发育的异常,如成熟的成骨细胞以及骨细胞数目的减少^[18]。成牙本质细胞可矿化的性质与成骨细胞类似,早期使用bFGF处理可促进成牙本质前体细胞分化为成牙本质细胞,并促进其增殖分裂以及功能蛋白的表达;但后期bFGF的处理则会抑制成牙本质细胞的进一步成熟与矿化^[19],但目前尚未有对于成骨细胞的类似研究报道。

Qi等^[20]发现转导成纤维细胞生长因子受体-3(fibroblast growth factor receptor 3,FGFR3)基因的软骨细胞中,FGFR3的高表达可加快骨形成蛋白受体-1A的降解,下调BMP通路,从而抑制软骨细胞分化,提示bFGF可通过FGF/FGFR3这一途径对BMP通路起抑制作用。

而Nakamura等^[21]的研究结果表明在应用bFGF剂量 > 100 ng/mL时,Smad通路抑制因子Smad6的表达会显著升高,这也是BMP-2促矿化作用效果受抑制的原因之一。

2 BMP-2与bFGF剂量选择

BMP-2与bFGF在被应用于骨缺损修复时均有一定的合适浓度范围。应用载有100 ng的bFGF或400 ng的BMP-2脱细胞真皮基质膜修复大鼠颅顶骨缺损可得到相似的修复效果^[22]。而联合应用BMP-2与bFGF时,二者的剂量、比例均可对于新骨再生具有一定影响,甚至可能导致相反的作用。增加BMP-2剂量可促进钙盐矿化沉积,但会干扰bFGF促细胞增殖作用,同时也有导致异位成骨等副作用的风险^[3-4];而不同bFGF的剂量对于新骨再

生的影响差异较大,甚至可能起相反的作用^[23-24]。目前临床上应用BMP-2或bFGF于骨缺损修复的研究仍较少^[10],多为组织工程细胞学研究或动物实验。

2.1 剂量影响

在培养小鼠成骨细胞时,联合应用100 ng/mL的BMP-2与2 ng/mL的bFGF可显著提高碱性磷酸酶表达水平^[23]。相比于单一使用大剂量生长因子(BMP-2 100 ng/mL或bFGF 10 ng/mL),联合应用小剂量的生长因子(BMP-2 10 ng/mL和bFGF 1 ng/mL)更能促进成骨细胞的成骨分化^[25]。而在培养环境中加入300 ng/mL的BMP-2与2.5 ng/mL的bFGF时,小鼠间充质干细胞的碱性磷酸酶表达量则低于单独应用BMP-2组^[26]。总体看来,在较低剂量范围(< 50 ng/mL)应用bFGF与BMP-2联合修复骨缺损时,二者具有协同作用。

2.2 比例影响

BMP-2与bFGF的比例也可能对骨修复效果产生影响。Wang等^[27]在研究BMP-2与bFGF联合应用于骨修复的最佳比例时,得出当BMP-2与bFGF剂量比为2:1时对于促进骨髓间充质干细胞成骨分化效果最佳的结论。但该研究仅在BMP-2的剂量固定为100 ng/mL的前提下改变bFGF的剂量,没有研究其他剂量下BMP-2与bFGF比例不同对成骨分化的影响。Bai等^[17]的研究结果则表明在BMP-2与bFGF的剂量比为5:1时对骨髓间充质干细胞的成骨分化促进效果最佳。各研究所选择的BMP-2剂量不同,导致相应比例的bFGF剂量也有所不同,故不同的骨修复效果是由于两种生长因子比例的不同还是由于bFGF剂量的改变所导致仍有待探讨。

目前研究对于在骨组织工程中联合应用BMP-2与bFGF时对二者剂量的选择并没有一个统一的最适范围。低剂量的bFGF(< 50 ng/mL)联合BMP-2应用于骨组织工程时二者表现为协同作用,相对于应用单一生长因子具有更好的促进骨再生效果,并且可以避免单独应用高剂量BMP-2潜在的副作用;而高剂量的bFGF(> 100 ng/mL)联合BMP-2应用时,其骨修复效果与单独应用BMP-2未有明显差异甚至起抑制作用。

3 药物控释系统

外源性生长因子半衰期短,局部使用后在短时间内即被稀释和代谢,故需反复大剂量使用,成本昂贵且在临床操作上带来不便。使用药物载体

加载生长因子不仅可以长期控释药物,而且通过选择不同性质载体,可实现不同药物在不同时期的顺序性释放,在一定程度上可模拟复杂的天然创伤修复过程中生长因子的时序性表达,从而达到更好的修复效果。

3.1 同时释药

BMP-2与bFGF在骨修复过程中存在一定协同作用,目前已有许多将BMP-2与bFGF同时应用于骨修复的报道。Wang等^[28]将加载有BMP-2和bFGF的磷酸钙水泥用于犬种植体周围骨缺损修复,相对于加载单一生长因子的磷酸钙水泥,联合应用BMP-2与bFGF具有更好的骨修复效果。但由于BMP-2及bFGF的半衰期均较短,且使用大剂量BMP-2有导致异位成骨及软组织肿胀的潜在风险^[29],故在临床上应用BMP-2或bFGF于骨缺损修复的研究仍较少^[10],而尚未见联合应用BMP-2与bFGF的临床研究报告。

为克服传统蛋白药物治疗这一缺点,Atluri等^[30]制备了转染BMP-2/bFGF基因序列的质粒复合聚乙烯亚胺纳米粒子,共同转导进入人脂肪源干细胞中,体外检测结果表明共转导BMP-2与bFGF基因的细胞表达更高水平的BMP-2、bFGF、及成骨分化标记如骨钙素Runx2。在兔糖尿病桡骨缺损模型中应用搭载该纳米粒子的胶原支架修复缺损部位,术后4周组织切片显示实验组有大量新骨形成,骨连接程度达64%,而对照组骨连接情况较差,新生骨量相对较少^[31]。转染后骨髓间充质干细胞成骨分化检测及大鼠皮下异位成骨结果表明基因转染技术治疗可克服传统递药系统中生长因子释放快,降解快的缺点,有望成为骨修复一种有效治疗手段^[32-35]。

3.2 顺序释药

天然骨修复过程中,生长因子的表达释放具有一定时序性,bFGF表达在早期纤维血管化时期被激活,随后在骨形成矿化时期BMP-2的表达被激活^[36]。根据这一特点,Wang等^[24]将不同的交联度的凝胶微球分别与BMP-2和bFGF复合注射到大鼠股骨踝处,但在体内实验中发现应用双因子顺序缓释材料后新生骨量反而下降,作者推测可能是由于bFGF使用剂量过高所致。在此之后,许多研究均通过不同的载药手段实现早期bFGF的快速释放及BMP-2的持续缓慢释放,相比于使用单一生长因子得到了更好的修复效果^[37-38]。

但以上几种载药系统仅能模拟天然骨修复中

bFGF的早期大量表达,而无法模拟BMP-2在后期的增量释放,故可能并未达到最佳的骨修复效果。Lei等^[39]通过电喷法制备了含BMP-2与bFGF的“壳-核”结构微球,体外实验表明在外壳包裹bFGF、内核包裹BMP-2可以实现bFGF早期快速释放,BMP-2晚期增量释放,更好的模拟了天然骨修复的过程,相对于单一/混合包裹两种生长因具有显著的促间充质干细胞成骨分化作用。

4 小 结

综上所述,在骨组织工程中应用剂量恰当的bFGF联合BMP-2可协同促进新骨的形成,相对于使用单一生长因子具有更好的修复效果,然而联合应用时BMP-2与bFGF的适宜剂量范围还有待进一步明确,有关BMP-2与bFGF之间相互协同和拮抗的机制,及药物控释系统如何更好地模拟自然骨修复过程中生长因子释放模式仍有待研究。与传统递药方法相比,基因治疗有望成为临床上一种骨缺损的有效手段。

参考文献

- [1] Hoang QQ, Sicheri F, Howard AJ, et al. Bone recognition mechanism of porcine osteocalcin from crystal structure[J]. *Nature*, 2003, 425(6961): 977-980.
- [2] Perez RA, Seo SJ, Won JE, et al. Therapeutically relevant aspects in bone repair and regeneration[J]. *Materials Today*, 2015, 18(10): 573-589.
- [3] Carragee EJ, Hurwitz EL, Weiner BK. A critical review of recombinant human bone morphogenetic protein-2 trials in spinal surgery: emerging safety concerns and lessons learned[J]. *Spine J*, 2011, 11(6): 471-491.
- [4] Boden SD. The ABCs of BMPs[J]. *Orthop Nurs*, 2005, 24(1): 49-52.
- [5] Marie PJ, Miraoui H, Severe N. FGF/FGFR signaling in bone formation: progress and perspectives[J]. *Growth Factors*, 2012, 30(2): 117-123.
- [6] Kusumbe AP, Ramasamy SK, Adams RH. Coupling of angiogenesis and osteogenesis by a specific vessel subtype in bone[J]. *Nature*, 2014, 507(7492): 323-328.
- [7] Ono I, Tateshita T, Takita H, et al. Promotion of the osteogenic activity of recombinant human bone morphogenetic protein by basic fibroblast growth factor[J]. *J Craniofac Surg*, 1996, 7(6): 418-425.
- [8] Chen GQ, Deng CX, Li YP. TGF-beta and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation[J]. *Int J Biol Sci*, 2012, 8(2): 272-288.
- [9] Huang RL, Yuan Y, Tu J, et al. Opposing TNF-alpha/IL-1 beta- and BMP-2-activated MAPK signaling pathways converge on Runx2 to regulate BMP-2-induced osteoblastic differentiation[J]. *Cell Death*

- Dis, 2014, 5(4): e1187.
- [10] Gronowicz G, Hurley MM, Kuhn LT. Optimizing BMP-2-induced bone repair with FGF-2[J]. *J Am Acad Orthop Surg*, 2014, 22(10): 677-679.
- [11] Uchida K, Inoue G, Matsushita O, et al. Basic fibroblast growth factor-anchored multilayered mesenchymal cell sheets accelerate periosteal bone formation[J]. *Biomed Res Int*, 2017, (1): 1-8.
- [12] Agas D, Sabbieti MG, Marchetti LA, et al. FGF-2 enhances runx-2/smads nuclear localization in BMP-2 canonical signaling in osteoblasts[J]. *J Cell Physiol*, 2013, 228(11): 2149-2158.
- [13] Naganawa T, Xiao LP, Coffin JD, et al. Reduced expression and function of bone morphogenetic protein-2 in bones of FGF2 null mice[J]. *J Cell Biochem*, 2008, 103(6): 1975-1988.
- [14] Jiang TR, Ge SF, Shim YH, et al. Bone morphogenetic protein is required for fibroblast growth factor 2-dependent later-stage osteoblastic differentiation in cranial suture cells[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(3): 2946-2954.
- [15] Bai Y, Leng Y, Yin G, et al. Effects of combinations of BMP-2 with FGF-2 and/or VEGF on HUVECs angiogenesis *in vitro* and CAM angiogenesis *in vivo*[J]. *Cell Tissue Res*, 2014, 356(1): 109-121.
- [16] Tasso R, Gaetani M, Molino E, et al. The role of bFGF on the ability of MSC to activate endogenous regenerative mechanisms in an ectopic bone formation model[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(7): 2086-2096.
- [17] Bai Y, Li P, Yin G, et al. BMP-2, VEGF and bFGF synergistically promote the osteogenic differentiation of rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. *Biotechnol Lett*, 2013, 35(3): 301-308.
- [18] Bruderer M, Richards RG, Alini M, et al. Role and regulation of runx2 in osteogenesis[J]. *Eur Cell Mater*, 2014, 28(1): 269-286.
- [19] Sagomyants K, Kalajzic I, Maye P, et al. FGF signaling prevents the terminal differentiation of odontoblasts[J]. *J Dent Res*, 2017, 96(6): 663-670.
- [20] Qi H, Jin M, Duan Y, et al. FGFR3 induces degradation of BMP type I receptor to regulate skeletal development[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1843(7): 1237-1247.
- [21] Nakamura Y, Tensho K, Nakaya H, et al. Low dose fibroblast growth factor-2(FGF-2) enhances bone morphogenetic protein-2 (BMP-2)-induced ectopic bone formation in mice[J]. *Bone*, 2005, 36(3): 399-407.
- [22] Du M, Zhu T, Duan X, et al. Acellular dermal matrix loading with bFGF achieves similar acceleration of bone regeneration to BMP-2 via differential effects on recruitment, proliferation and sustained osteodifferentiation of mesenchymal stem cells[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2017, 70(Pt 1): 62-70.
- [23] Park JB. Effects of the combination of fibroblast growth factor-2 and bone morphogenetic protein-2 on the proliferation and differentiation of osteoprecursor cells[J]. *Adv Clin Exp Med*, 2014, 23(3): 463-467.
- [24] Wang HA, Zou Q, Boerman OC, et al. Combined delivery of BMP-2 and bFGF from nanostructured colloidal gelatin gels and its effect on bone regeneration *in vivo*[J]. *J Control Release*, 2013, 166(2): 172-181.
- [25] Li PP, Bai Y, Yin GF, et al. Synergistic and sequential effects of BMP-2, bFGF and VEGF on osteogenic differentiation of rat osteoblasts[J]. *J Bone Miner Metab*, 2014, 32(6): 627-635.
- [26] Luong LN, Ramaswamy J, Kohn DH. Effects of osteogenic growth factors on bone marrow stromal cell differentiation in a mineral-based delivery system[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(1): 283-294.
- [27] Wang L, Huang Y, Pan K, et al. Osteogenic responses to different concentrations/ratios of BMP-2 and bFGF in bone formation[J]. *Ann Biomed Eng*, 2010, 38(1): 77-87.
- [28] Wang L, Zou DH, Zhang SJ, et al. Repair of bone defects around dental implants with bone morphogenetic protein/fibroblast growth factor-loaded porous calcium phosphate cement: a pilot study in a canine model[J]. *Clin Oral Implants Res*, 2011, 22(2): 173-181.
- [29] Shimer AL, Oner FC, Vaccaro AR. Spinal reconstruction and bone morphogenetic proteins: open questions[J]. *Injury*, 2009, 40(3): 32-38.
- [30] Atluri K, Seabold D, Hong L, et al. Nanoplex-mediated codelivery of fibroblast growth factor and bone morphogenetic protein genes promotes osteogenesis in human adipocyte-derived mesenchymal stem cells[J]. *Mol Pharm*, 2015, 12(8, SI): 3032-3042.
- [31] Khorsand B, Nicholson N, Do AV, et al. Regeneration of bone using nanoplex delivery of FGF-2 and BMP-2 genes in diaphyseal long bone radial defects in a diabetic rabbit model[J]. *J Control Release*, 2017, 248(1): 53-59.
- [32] Li B, Jha RK, Qi YJ, et al. Early cellular responses of BMSCs genetically modified with bFGF/BMP2 co-cultured with ligament fibroblasts in a three-dimensional model *in vitro*[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(5): 1578-1586.
- [33] Yang Y, Jin G, Li L, et al. Enhanced osteogenic activity of mesenchymal stem cells and co-modified BMP-2 and bFGF genes[J]. *Ann Transplant*, 2014, 19(4): 629-638.
- [34] Rose LC, Kucharski C, Uludag H. Protein expression following non-viral delivery of plasmid DNA coding for basic FGF and BMP-2 in a rat ectopic model[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(11): 3363-3374.
- [35] Li X, Lin Z, Duan Y, et al. Repair of large segmental bone defects in rabbits using BMP and FGF composite xenogeneic bone[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(2): 6395-6400.
- [36] Hankenson KD, Gagne K, Shaughnessy M. Extracellular signaling molecules to promote fracture healing and bone regeneration[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015, 94(1): 3-12.
- [37] Charles LF, Woodman JL, Ueno DA, et al. Effects of low dose FGF-2 and BMP-2 on healing of calvarial defects in old mice[J]. *Exp Gerontol*, 2015, 64(1): 62-69.
- [38] Lee HJ, Koh WG. Hydrogel micropattern - incorporated fibrous scaffolds capable of sequential growth factor delivery for enhanced osteogenesis of hMSCs[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2014, 6(12): 9338-9348.
- [39] Lei L, Wang S, Wu HH, et al. Optimization of release pattern of FGF-2 and BMP-2 for osteogenic differentiation of low-population density hMSCs[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2015, 103(1): 252-261.

(编辑 张琳)