

## 基因芯片技术对耐多药结核病患者治疗的指导价值

王丹吉<sup>1</sup>, 刘巧<sup>2</sup>, 陆伟<sup>2</sup>, 竺丽梅<sup>2</sup>, 羊海涛<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>东南大学公共卫生学院流行病与卫生统计学系, 江苏 南京 210009; <sup>2</sup>江苏省疾病预防控制中心慢性传染病防制研究所, 江苏 南京 210009

**[摘要]** **目的:**采用基因芯片技术检测耐药结核菌株异烟肼耐药位点 inhA-15(C-T)突变,为耐药结核病患者治疗提供指导。**方法:**从2014年1月1日~2016年12月31日,在江苏省连云港市结核病定点医院连续纳入涂阳结核病患者,利用基因芯片技术检测菌株利福平耐药相关基因 ropB 以及异烟肼耐药相关基因 katG 和 inhA 的野生型及不同突变型。以传统药敏结果为金标准,分析异烟肼耐药相关位点 inhA-15(C-T)的突变。**结果:**共有1 356例肺结核患者纳入最终结果分析,通过基因芯片技术检测1 356例患者痰涂片标本,22例(12.2%)仅出现了 inhA 位点突变不伴随 katG 位点突变,其中耐多药结核病(multidrug-resistant tuberculosis, MDR-TB)3例占15.4%,早期广泛耐药结核(early extensive drug resistant tuberculosis, pre-XDR-TB)1例占7.7%,广泛耐药(extensively drug-resistant, XDR-TB)菌株3例占23.1%。有32例(17.7%)出现了 inhA 位点突变和(或)katG 位点突变,其中12例(23.1%)MDR-TB患者,3例(23.1%)为 pre-XDR-TB 患者,3例(23.1%)为 XDR-TB 患者。**结论:**超过10%耐药结核患者的菌株出现了 inhA-15 位点的单突变,说明大剂量异烟肼可以用于治疗这些耐药患者。尽管乙(丙)硫异烟胺已经广泛应用于耐多药患者治疗中,但是近20%的耐药患者对其已经产生了耐药。基因芯片技术特异性报告耐药结核病患菌株的位点突变,将对临床用药有一定的指导作用。

**[关键词]** 基因芯片;耐药;位点突变;大剂量异烟肼

**[中图分类号]** R52

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2018)07-983-05

**doi:**10.7655/NYDXBNS20180721

### Study on the value of genechip technology in the treatment of multidrug - resistant tuberculosis patients

Wang Danji<sup>1</sup>, Liu Qiao<sup>2</sup>, Lu Wei<sup>2</sup>, Zhu Limei<sup>2</sup>, Yang Haitao<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Southeast University, Nanjing 210009;

<sup>2</sup>Department of Chronic Communicable Disease, Center for Disease Control and Prevention of Jiangsu Province, Nanjing 210009, China

**[Abstract]** **Objective:** To detect the mutation of isoniazid resistance gene inhA-15(C-T) in drug-resistant tuberculosis strains by genechip technology, and to provide guidance for the treatment of drug-resistant tuberculosis patients. **Method:** From January 1, 2014 to December 31, 2016, patients with smear positive tuberculosis were continuously enrolled in TB designated hospitals in Lianyungang city of Jiangsu Province. The wild type and mutant type gene rpoB and wild type and mutant type of katG and inhA were detected by gene chip technique. Based on the results of traditional susceptibility test, the mutation frequency of related resistance loci, especially the mutation of isoniazid resistance related gene inhA-15(C-T), was analyzed in different drug-resistant strains. **Results:** A total of 1 356 patients with pulmonary tuberculosis were included in the final analysis. Through the detection of genechip technology, 22 (12.2%) strains had a single mutation at inhA gene mutation without katG mutation, Among them, 3 cases of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) accounted for 15.4%, 1 case of early extensive drug resistant tuberculosis (pre-XDR-TB) accounted for 7.7%, and 3 cases of extensively drug-resistant (XDR-TB) strains accounted for 23.1%. There were 32 cases (17.7%) had inhA gene mutation and / or katG gene mutation, of which 12 (23.1%) were in MDR-TB, 3 (23.1%) were in pre-XDR-TB, and 3 (23.1%) were in XDR-TB. **Conclusion:** More than 10% drug-resistant TB patients have a single mutation at the inhA-15 locus, indicating that large doses of isoniazid can be used to treat these drug-resistant patients. Although ethionamide (protonamide) had been widely used in the treatment of MDR-TB patients, almost 20% of drug resistant patients were resistant to these two drugs. The application of genechip has

**[基金项目]** 国家科技重大专项(2013ZX10004905)

\*通信作者 (Corresponding author), E-mail: yanghtj@scdc@163.com

specifically reported gene mutations in drug-resistant tuberculosis patients, which will have some guiding effect on clinical treatment.

[Key words] genechip; drug resistance; gene mutation; high dose isoniazid

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(07):983-987]

结核病是威胁人类健康的全球性重大公共卫生问题。我国是全球30个耐多药结核病(multidrug-resistant tuberculosis, MDR-TB)高负担国家之一,病例数位居全球第3位<sup>[1]</sup>,2010年流行病学抽样调查结果显示,中国每年约有10万例新发MDR-TB患者,其中广泛耐药结核病(extensively drug-resistant, XDR-TB)占2.1%<sup>[2-3]</sup>。

李桂莲等<sup>[4]</sup>研究发现在异烟肼低水平耐药菌株体外最低抑菌浓度(MIC)0.25~1.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 中突变以 *inhA* 基因启动子区突变为主,而在异烟肼高水平耐药菌株中  $\text{MIC} \geq 2.00$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以 *katG* 315位突变为主。Van Soolingen等<sup>[5]</sup>研究了148株出现*katG*基因315位点突变的异烟肼耐药菌株  $\text{MIC} \geq 5.00$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,明显高于其他位点突变菌株体外MIC。对于出现*inhA*的异烟肼耐药菌株可以使用大剂量异烟肼,而对于出现*katG*基因突变的耐药菌株则不建议使用大剂量的异烟肼<sup>[6-7]</sup>。

*inhA*基因启动子区突变除了会导致低水平的异烟肼耐药相关之外还可以引起高水平的乙(丙)硫异烟胺耐药<sup>[8]</sup>。目前国内使用的MDR-TB标准化治疗方案中乙(丙)硫异烟胺作为耐多药结核治疗方案中的核心药物之一<sup>[9]</sup>,对于出现了*inhA*基因突变的MDR-TB患者使用了丙硫异烟胺并不能起到很好的治疗作用。目前江苏省已经全面推广结核病新诊断技术,市级结核病定点医院使用基因芯片技术检测结核分枝杆菌耐药情况,但针对结核分枝杆菌*inhA*位点突变情况还未见报道。本文通过分析江苏地区结核分枝杆菌异烟肼耐药的突变特点,旨在更好方便指导MDR-TB患者的临床治疗。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

2014年1月1日—2016年12月31日,连续收集连云港市结核病定点医院(连云港市第四人民医院)痰涂片阳性结核病患者痰标本,按照规划实施工作的要求均进一步开展传统药敏和基因芯片技术检测菌株耐药情况。

北京博奥生物技术有限公司生产的基因芯片

技术相关的芯片检测试剂盒、PCR扩增仪、芯片杂交仪和微阵列芯片扫描读片仪等;罗氏培养基及药敏培养基由珠海贝索生物技术有限公司生产。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 基因芯片检测

基因芯片法检测利福平耐药相关基因 *ropB* 的野生型及突变型,此外还检测异烟肼的耐药相关基因 *katG* 和 *inhA* 的野生型及突变型,共检测8个突变位点,分别为 *ropB*511(T-C)、*ropB*513(A-C)、*ropB*516(G-T、A-T、A-G)、*ropB*526(C-T、C-G、A-T、A-G)、*ropB*531(C-T、C-G)、*ropB*533(T-C)、*katG*315(G-C、G-A)和 *inhA*-15(C-T)。

将PCR扩增试剂放置室温至融化,充分混匀后4 000 r/min离心30 s,配制PCR扩增试剂1、2、3(扩增产物分别为分枝杆菌属探针序列、*ropB*基因位点突变序列、*katG*和*inhA*基因位点突变序列)。分别按18  $\mu\text{L}/\text{管}$ 进行分装,每个被测样品分别向3管中加入核酸提取液2  $\mu\text{L}$ ,每管PCR反应体系的总体积为20  $\mu\text{L}$ 。放入PCR扩增仪进行扩增反应,扩增程序:94  $^{\circ}\text{C}$ 变性10 min,94  $^{\circ}\text{C}$  30 s,60  $^{\circ}\text{C}$  30 s,72  $^{\circ}\text{C}$  40 s,共35个循环;94  $^{\circ}\text{C}$  30 s,72  $^{\circ}\text{C}$  60 s,共10个循环;72  $^{\circ}\text{C}$ 延伸7 min。PCR反应条件在2%琼脂糖凝胶中电泳检测扩增产物。

将扩增产物于95  $^{\circ}\text{C}$ 变性5~10 min后立即冰浴3 min,每份标本分为2管,分别加入9  $\mu\text{L}$ 杂交缓冲液,其中1管加入3  $\mu\text{L}$ 扩增产物1和2,另1管中加入3  $\mu\text{L}$ 扩增产物1和3,吹吸混匀后从杂交盒的小孔处向芯片点阵加入14.5  $\mu\text{L}$ 杂交混合物,置于50  $^{\circ}\text{C}$ 杂交仪中杂交2 h。按说明书配制洗液1和洗液2,按已设置的洗涤程序洗片,读片结束后置于甩干仪中甩干,然后把芯片放入扫描仪中自动读取数据并判读结果。

#### 1.2.2 传统药敏试验

药敏试验方法参考《结核病耐药监测指南》的比例法,4种含药培养基中各药浓度分别为:异烟肼(INH)0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、链霉素(SM)4.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、利福平(RFP)40.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、乙胺丁醇(EMB)2.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。将培养2~3周的菌株磨匀后与麦氏比浊管比浊,配制浓度为1 mg/mL的菌悬液,用无菌生理盐水稀释

至  $10^{-3}$  mg/mL 和  $10^{-5}$  mg/mL, 分别取 0.01 mL 菌液均匀地接种至对照及含药培养基斜面上, 置 37 °C 培养 4 周后进行观察。

### 1.3 统计学方法

采用 Excel 软件进行数据录入, 采用 SPSS23.0 软件对数据进行统计分析, 连续性变量用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )描述, 定量资料的两组比较采用 *t* 检验。病例组和对照组的分类资料用率描述, 组间比较采用  $\chi^2$  检验, 检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 患者纳入情况

从 2014 年 1 月—2016 年 12 月, 在江苏省连云港市第四人民医院共收集肺结核痰涂片阳性患者标本 1 659 例, 同时开展传统药敏试验和基因芯片技术检测。传统药敏试验中 7 例发生了污染, 11 例传统固体培养阴性, 63 例菌种鉴定为非结核分枝杆菌(NTM); 基因芯片检测过程中 170 例报告为 NTM, 46 例报告为未检出, 17 例为无法判读, 共有 1 356 例纳入最终的结果分析。纳入的肺结核患者中男 1 063 (78.4%) 例, 女 293 (21.6%) 例。患者年龄最小 14 岁, 最大 94 岁, 平均年龄 ( $52.41 \pm 19.68$ ) 岁。纳入的 1 356 例中, 1 084 例 (79.9%) 为初治结核病患者, 293 例 (21.6%) 为复治结核病患者 (表 1)。

### 2.2 基因芯片法与传统药敏方法检测异烟肼和利福平耐药性结果

收集的 1356 例肺结核患者标本, 传统药敏试验结果显示 76 例 (5.6%) 为异烟肼单耐药, 28 例 (2.1%) 为利福平单耐药, 53 例 (3.9%) 为 MDR-TB, 13 例 (0.8%) 为广泛耐药结核病前期 (early extensive drug resistant tuberculosis, pre-XDR-TB) 例, 14 例 (1.0%) 为 XDR-TB。基因芯片技术结果显示共有 180 例菌株出现了 *rpoB/katG/inhA* 中任一突变, 其中有 4 株传统药敏试验鉴定为耐药的菌株基因芯片未检测到任何突变。共有 22 株 (12.2%) 菌株基因芯片检测出现了 *inhA* 基因单位点突变, 其中耐多药结核菌株中 8 株 (15.4%) 为 *inhA* 基因单位点突变, 1 株 (7.7%) pre-XDR-TB 出现了 *inhA* 基因单位点突变, 3 株 (23.1%) XDR-TB 菌株出现了 *inhA* 基因单位点突变。在这些患者的治疗方案中增大异烟肼剂量有可能受益。有 32 例 (17.7%) 患者的菌株出现了 *inhA* 基因突变, 其中 12 例 (23.1%) 在 MDR-TB 患者中, 3 例 (23.1%) 在 pre-XDR-TB, 3 例 (23.1%) 在 XDR-TB, 出现 *inhA* 基因位点突变可导致高浓度的乙(丙)硫异烟胺耐药, 此类二线化疗药物可能对这些耐药患者无效 (表 2)。

### 2.3 基因芯片位点突变检测情况

基因芯片法检测有 91 例菌株出现了 *rpoB* 基因突

表 1 1 356 例肺结核患者的人口学特征和耐药情况

Table 1 Demographic characteristics and drug resistance of 1 356 pulmonary tuberculosis patients [n(%)]

指标	例数	任一药物耐药	<i>P</i> 值	MDR-TB	<i>P</i> 值	pre-XDR-TB	<i>P</i> 值	XDR-TB	<i>P</i> 值
性别			0.001		0.026		0.170		0.017
女性	293(21.6)	63(21.5)		18(6.1)		5(1.7)		7(2.4)	
男性	1 063(78.4)	147(13.8)		35(3.3)		8(0.8)		7(0.7)	
年龄分组(岁)			0.113		0.341		0.438		0.809
0~34	342(25.2)	43(12.6)		10(2.9)		1(0.3)		4(1.2)	
34~56	348(25.7)	64(18.4)		13(3.7)		5(1.4)		2(0.6)	
56~68	341(25.1)	47(13.8)		12(3.5)		3(0.9)		4(1.2)	
> 68	325(24.0)	56(17.2)		18(5.5)		4(1.2)		4(1.2)	
患者分类			0.001		0.001		0.030		0.173
初治患者	1 084(79.9)	150(13.8)		33(3.0)		7(0.6)		9(0.8)	
复治患者	272(20.1)	60(22.1)		20(7.4)		6(2.2)		5(1.8)	
地区			0.604		0.051		0.765		0.773
农村地区	923(68.1)	148(15.8)		43(4.6)		10(1.1)		9(1.0)	
城市地区	433(31.9)	62(14.7)		10(2.4)		3(0.7)		5(1.2)	
涂片等级			0.086		0.210		0.282		0.079
≤1+	485(35.8)	80(16.5)		25(5.2)		7(1.4)		8(1.6)	
2+	277(20.4)	31(11.2)		9(3.2)		3(1.1)		4(1.4)	
≥3+	594(43.8)	99(16.7)		19(3.2)		3(0.5)		2(0.3)	

变,其中88例为单位点突变,2例为双位点突变,1例为三位点突变,突变频率最高的位点是531,突变频率为52.7%(48/91);其次是526,突变频率为24.2%(22/91)。基因芯片检出155例菌株出现了katG、

inhA位点突变,其中114例为katG 315单位点突变,突变率为73.5%(114/155);32例为inhA基因-15单位点突变,突变率为20.6%(32/155);katG、inhA基因位点联合突变9例,占5.8%(9/155)。

表2 基因芯片法与传统药敏方法检测异烟肼和利福平耐药性结果情况

Table 2 Results of genechip method and traditional drug susceptibility testing for isoniazid and rifampicin resistance (n)

传统药敏结果	单耐异烟肼			单耐利福平	MDR-TB			未检出	合计
	仅 inhA	仅 katG	inhA+katG	仅 rpoB	rpoB+inhA	rpoB+katG	rpoB+katG +inhA		
单耐异烟肼	9	57	2	0	1	4	2	1	76
单耐利福平	0	2	0	23	0	2	0	1	28
MDR-TB	1	3	1	3	7	34	3	1	53
Pre-XDR-TB	0	0	0	2	1	8	2	0	13
XDR-TB	0	2	0	0	3	8	0	1	14
合计	10	64	3	28	12	56	7	4	184

### 3 讨论

2014年,WHO提出终止结核病策略(The END TB Strategy),期望到2035年结核病死亡率下降95%、发病率下降90%。在实现这一目标的进程中,最大的障碍之一是MDR-TB的控制。异烟肼是最早用于治疗结核病的合成药物,也是使用最广泛的一线药物。异烟肼耐药性不稳定,即使在耐药情况下仍可能有一定抗结核作用,并可延缓或防止结核分枝杆菌对其他抗结核药产生耐药<sup>[10]</sup>。WHO推荐在MDR-TB治疗过程中可以使用大剂量异烟肼作为辅助药物强化效果<sup>[11]</sup>。肖和平<sup>[12]</sup>指出,对于某些低浓度耐药、高浓度敏感的抗结核药物,可以通过适当提高用药剂量来解决耐药问题。大剂量异烟肼发挥有效性机制主要是针对inhA启动子突变导致的异烟肼低水平耐药。

2008年Katiyar等<sup>[13]</sup>在印度开展了一项临床随机对照试验,这项研究在复治的MDR-TB患者中开展,患者被随机分到3组,大剂量异烟肼组(16~18 mg/kg)、正常剂量异烟肼组(5 mg/kg)和安慰剂组。全部患者均接受其他抗结核药物阿米卡星、左氧氟沙星、丙硫异烟胺和对氨基水杨酸。研究者发现大剂量异烟肼组的MDR-TB患者痰阴转时间比没有接受大剂量异烟肼对照组快2.38倍。大剂量异烟肼组平均痰阴转时间为3.4个月,正常异烟肼剂量组平均痰阴转时间为6.4个月,安慰剂对照组的平均痰阴转时间为6.6个月。大剂量异烟肼组6个月末痰阴转率是其他组的2.37倍,该研究显示大剂量异烟肼作为辅助治疗能显著改善MDR-TB患者的

治疗结局。

不同地区的研究结果显示,在异烟肼耐药的菌株中inhA基因单独突变的频率从0.8%~22.0%不等<sup>[7,14]</sup>。Wade等<sup>[15]</sup>在中国重庆的报告中显示在异烟肼耐药的菌株中,9.6%的菌株仅发生了inhA基因-15位点突变,本研究结果显示,在单耐异烟肼的菌株中13.2%仅出现inhA基因位点突变,高于重庆的研究结果。在耐多药患者的菌株中,inhA基因突变的频率也是随着地区的不同而不同,南非的一项研究结果显示MDR-TB患者中接近40%的菌株仅出现了inhA突变<sup>[16]</sup>,远高于本研究的结果15.4%。乙(丙)硫异烟胺最为耐药结核治疗方案中的C类口服药物,一直是耐多药患者的治疗核心药物。肖和平<sup>[12]</sup>最新的耐药结核病化学治疗指南中指出如果菌株发生inhA基因突变将会存在异烟肼和乙硫异烟胺交叉耐药。本研究结果显示有32例(17.7%)菌株出现了inhA突变,其中14例(23.1%)在单耐异烟肼患者中,12例(23.1%)在MDR-TB患者中,3例(23.1%)在pre-XDR患者中,3例(23.1%)在XDR患者中,这些出现inhA位点突变的患者使用二线化疗药物乙(丙)硫异烟胺可能会没有效果。inhA-15位点突变会导致乙(丙)硫异烟胺高浓度耐药,通过基因芯片快速诊断技术报告耐药的特异位点,能够迅速调整患者的治疗方案,更合理地使用大剂量异烟肼和乙(丙)硫异烟胺,指导结核病患者临床用药。

《“十三五”全国结核病防治规划》明确要求在“十三五”期间加快推广使用各种新诊断技术,从而提高结核病病原学阳性诊断率,缩短耐药结核病诊断时间。尽管目前基因芯片能检测药物敏感性的

种类还很有限,还不能完全代替传统的药物敏感性试验方法,但基因芯片技术与传统药敏方法相比明显缩短检测时间,仅需5~6h,且自动化程度高,易于标准化。2017年以来江苏省全面实施结核病分级诊疗综合防治服务模式,全面推广应用耐药结核病新诊断技术,对于地市级基因芯片技术检测结果为利福平敏感时,不再进行传统(或液体)药敏试验;对于基因芯片检测为利福平耐药或耐多药时,及时给予二线药物治疗,同时取这些患者痰标本进行二线传统(或液体)药敏试验,检测对其他二线药物的敏感性,及时调整患者治疗方案。

[参考文献]

- [1] WHO. Global tuberculosis report[R]. 2016
- [2] 全国第五次结核病流行病学抽样调查技术指导组,全国第五次结核病流行病学抽样调查办公室.2010年全国第五次结核病流行病学抽样调查报告[J]. 中国防痨杂志,2012,34(8):485-508
- [3] Zhao Y, Xu S, Wang L, et al. National survey of drug-resistant tuberculosis in China[J]. N Engl J Med, 2012, 366(23):2161-2170
- [4] 李桂莲,张敬蕊,赵秀芹,等.结核分枝杆菌对异烟肼和利福平的耐药水平与其耐药基因突变的相关性研究[J]. 中国防痨杂志,2012,34(6):354-359
- [5] Van Soolingen D, De Haas PE, Van Doorn HR, et al. Mutations at amino acid position 315 of the katG gene are associated with high-level resistance to isoniazid, other drug resistance, and successful transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in the Netherlands[J]. J Infect Dis, 2000, 182(6):1788-1790
- [6] Niehaus AJ, Mlisana K, Gandhi NR, et al. High prevalence of inhA promoter mutations among patients with drug-resistant tuberculosis in KwaZulu-Natal, South Africa[J]. PLoS One, 2015, 10(9):e0135003
- [7] Abate D, Tedla Y, Meressa D, et al. Isoniazid and rifampicin resistance mutations and their effect on second-line anti-tuberculosis treatment [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2014, 18(8):946-951
- [8] Müller B, Streicher EM, Hoek KG, et al. inhA promoter mutations: a gateway to extensively drug-resistant tuberculosis in South Africa? [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2011, 15(3):344-351
- [9] 陈明亭,李仁忠,阮云洲.耐多药结核病防治标准化培训教程[M].北京:人民卫生出版社,2015:53-54
- [10] 羊海涛,陆伟,竺丽梅.耐药结核病的治疗与控制[M].北京:军事医学科学出版社,2014:88-89
- [11] WHO. WHO treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis[Z]. 2016
- [12] 肖和平.耐药结核病化学治疗指南[M].北京:人民卫生出版社,2011:101-102
- [13] Katiyar SK, Bihari S, Prakash S, et al. A randomised controlled trial of high-dose isoniazid adjuvant therapy for multidrug-resistant tuberculosis [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2008, 12(2):139-145
- [14] Herrera L, Valverde A, Saiz P, et al. Molecular characterization of isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical strains isolated in the Philippines [J]. Int J Antimicrob Agents, 2004, 23(6):572-576
- [15] Wade MM, Volokhov D, Peredelchuk M, et al. Accurate mapping of mutations of pyrazinamide-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains with a scanning-frame oligonucleotide microarray [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2004, 49(2):89-97
- [16] Chihota VN, Müller B, Mlambo CK, et al. Population structure of multi- and extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains in South Africa [J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(3):995-1002

[收稿日期] 2017-11-22

(上接第939页)

- (1):79-87
- [12] Narayanan G, Vernekar VN, Kuyinu EL, et al. Poly(lactic acid)-based biomaterials for orthopaedic regenerative engineering [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2016, 107:247-276
- [13] 杨亮亮.赖氨酸对电纺PLGA超细纤维降解的pH调控及生物相容性研究[D].湖南:东华大学,2015
- [14] Yamagata K, Nakayamada S, Tanaka Y. Use of mesenchymal stem cells seeded on the scaffold in articular cartilage repair [J]. Inflamm Regen, 2018, 38(1):4
- [15] Almeida HV, Cunniffe GM, Vinardell T, et al. Coupling freshly isolated CD44(+) infrapatellar fat pad-derived stromal cells with a TGF-beta3 eluting cartilage ECM-derived scaffold as a single-stage strategy for promoting chondrogenesis [J]. Adv Healthc Mater, 2015, 4(7):1043-1053
- [16] El-Sherbiny IM, Yacoub MH. Hydrogel scaffolds for tissue engineering: Progress and challenges [J]. Glob Cardiol Sci Pract, 2013, 2013(3):316-342
- [17] 鹿亮,郭全义,杨启友,等.异种关节软骨脱细胞基质支架的免疫反应研究[J].中国矫形外科杂志,2010,18(1):58-62

[收稿日期] 2018-04-03