

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.09.031

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2019.09.031>

富血小板血浆在骨修复中的机制及应用

刘洋 综述 王文波 审校

(哈尔滨医科大学附属第一医院骨三科, 哈尔滨 150001)

[摘要] 富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)是含有高浓度血小板的血浆, 其富含的各类生长因子, 可在骨再生的各个阶段直接或间接促进干细胞向成骨分化, 同时抑制破骨细胞分化, 从而促进新骨再生。为阐述大段骨缺损后的骨修复过程, 大量研究围绕成骨机制展开。

[关键词] 骨缺损; 富血小板血浆; 成骨机制

Mechanism and application of platelet-rich plasma in bone repair

LIU Yang, WANG Wenbo

(Third Department of Orthopedics, First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China)

Abstract Platelet-rich plasma is a plasma containing high concentrations of platelets, which are rich in various growth factors, which can directly or indirectly promote the differentiation of stem cells into osteoblasts at various stages of bone regeneration, and inhibit osteoclast differentiation, thereby promoting new bone regeneration. In order to explain the bone repair process after large segmental bone defect, a large number of studies have been carried out around the osteogenesis mechanism.

Keywords bone defect; platelet-rich plasma; osteogenic mechanism

骨缺损难以修复是骨科治疗的难题之一。目前用于骨缺损的治疗方法主要有自体骨移植、同种异体骨移植、异种骨移植、生物材料填充及机械物理刺激等。但各种治疗方式都受到一定制约, 如自体骨供区骨量有限、增加患者疼痛, 可能导致血管神经损伤; 异种骨增加免疫排斥反应和感染的风险; 人工骨材料虽种类丰富, 来源广泛, 但缺乏成骨诱导性^[1]。富血小板血浆(platelet-rich plasma,

PRP)来源于外周循环血, 富含高浓度血小板、生长因子及纤维蛋白原等, 可显著促进骨修复, 实现自体移植, 为治疗骨缺损提出新的治疗方案^[2]。

1 PRP

PRP是外周静脉血经过梯度离心后获得的富含高浓度血小板的血浆, 其血小板的浓度为全血

收稿日期 (Date of reception): 2019-02-17

通信作者 (Corresponding author): 王文波, Email: wang_wenbo@aliyun.com

基金项目 (Foundation item): 黑龙江省自然科学基金 (H201454); 黑龙江省普通高等学校骨干教师创新能力资助计划 (1054G028)。This work was supported by the Heilongjiang Natural Science Foundation (H201454) and Innovation Ability Funding Plan for Key Teachers in Ordinary Institutions of Higher Learning of Heilongjiang Province (1054G028), China.

的3~17倍。最早关于PRP修复骨缺损的临床研究是Marx于1998年利用PRP复合移植骨修复下颌骨缺损, 实验结果^[3]显示PRP移植骨密度明显高于对照组。PRP通常被CaCl₂和凝血酶激活, 激活后其中的 α 颗粒便释放大量的生长因子, 有血小板源性生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)、转化生长因子 β (TGF- β)、血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)、成纤维生长因子(fibroblast growth factor, FGF)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、纤维蛋白原、粘连蛋白、纤维连接蛋白等^[4], 这些生长因子能单独或相互协作促进干细胞向成骨细胞分化, 促进成骨细胞增殖及成骨表达。因此PRP可以在骨缺损治疗中取得显著成效。

2 PRP 促进成骨愈合的机制

PRP通过释放存储在血小板 α 颗粒中的几种生长因子和炎症因子刺激细胞迁移和成熟, 促进骨形成。但目前针对PRP在成骨方面的具体机制尚未完全阐明, 主要的研究机制围绕炎症细胞因子、生长因子、血管化及对破骨细胞的作用等展开。

2.1 PRP 的炎症因子在成骨愈合中的作用

在骨修复的第一阶段, 炎症细胞及血小板分泌肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6(IL-6)促进骨修复与血管形成。在创伤初期, 血小板被快速聚集到损伤处, 与血小板活化受体1(platelet activated receptor 1, PAR1)结合后分泌血小板衍生物反应调节剂, 包括TNF- α 和IL-1, 促进骨形成。研究^[5-6]表明: TNF- α 可促进人体脂肪组织来源干细胞增殖和增加碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)的活性。IL-6可通过增加ALP活性, 促进人体脂肪组织来源干细胞形成骨钙结节。Yin等^[7]使用富含白细胞的PRP(L-PRP)和纯的PRP(P-PRP)修复颅骨缺损, 均获得了良好的成骨结果, 且P-PRP的效果优于L-PRP, 这可能是由于L-PRP产生了更多的炎症因子, 激活NF- κ B途径引起NF- κ B异二聚体的易位, 上调下游炎症相关基因(COX-2和iNOS)的表达并合成PGE₂和NO, 抑制骨和新生血管生成。笔者推测过量的炎症因子可能会损失一部分成骨作用, 因此在使用PRP治疗骨缺损时, 炎症因子应维持在一个适宜的浓度, 有待进一步研究证明。

2.2 PRP 中生长因子促进成骨愈合的作用

PRP中的生长因子可在缺损区域内协同促进干细胞分化为成骨细胞, 促进成骨细胞增殖, 提高成骨活性, 加速骨再生, 这是在骨缺损治疗中的关键因素。其中, PDGF, TGF- β 和IGF的作用最重要。

2.2.1 PDGF 的作用

PDGF是一种多肽样物质, 由血小板、巨噬细胞、内皮细胞和成骨细胞等分泌, 可促进人体干细胞向成骨细胞分化, 促进新生血管形成, 在成骨细胞中刺激IL-6的合成, 从而促进骨形成和再生^[8]。有研究^[9-10]通过观察PDGF-BB过表达基因修饰的基质干细胞(bone marrow stromal cells, BMSCs)的增殖能力及成骨相关标志物, 例如I型胶原(Col-1)、骨桥蛋白(osteopontin, OPN)和骨钙素(osteocalcin, OCN), 发现修饰后的基质干细胞表现出更强的增殖分化能力和ALP活性, PDGF-BB在与其受体结合后可通过ERK1/2及Src/JAK2信号转导途径增加BMSCs的成骨分化并抑制其脂肪形成。Li等^[11]证实PDGF-AA可激活BMP-Smad1/5/8信号转导通路, 从而通过BMP-Smad1/5/8-Twist1/Atf4途径促进MSC迁移, 并通过BMP-Smad1/5/8-Runx2/Osx途径促进MSC成骨分化。

此外, PDGF还可作用于血管平滑肌细胞, 促进血管平滑肌细胞迁移和增殖并通过Notch信号转导途径诱导血管生成^[12]。因此, PDGF不仅可以诱导成骨细胞分化, 还可以促进血管平滑肌细胞的迁移和血管生成, 这对新骨生成至关重要。

2.2.2 TGF- β 的作用

TGF- β 是骨形成的有效刺激物, 通过促进成骨细胞分化和类骨质基质的合成, 并抑制金属蛋白酶的合成来促进骨再生, 还可抑制破骨细胞的形成, 减少骨吸收^[13]。研究^[14-15]表明: 使用TGF- β 过表达基因修饰的BMSCs治疗股骨缺损, 在固定时间点检测成骨相关标志物, 发现过表达组SATB2, Runt相关转录因子2(Runx2)和OCN的表达明显增加, 且形成的新骨表面光滑, 骨小梁相对密集, 钙化更成熟, 更接近正常骨骼表面, 笔者认为可能是TGF- β 诱导了Smad2和Smad3磷酸化, 活化的R-Smads形成复合物易位的Smads进入细胞核和伴侣蛋白质调节特定靶基因的转录以促进成骨, 并且刺激MSCs诱导表达碱性亮氨酸拉链结构因子(C/EBP β), 可以与IL-6启动子中的IL-1反应元件结合并募集巨噬细胞。此外, TGF- β 还可以促进骨诱导蛋白和骨生长因子产生。

2.2.3 IGF 的作用

IGF在骨修复时参与间充质细胞、骨膜细胞、成骨细胞的增殖和分化,可以与PDGF协同作用促进表皮和血管内皮的再生。研究^[16]表明:使用IGF1信号转导受体(IGF1R)条件性敲除(KO)小鼠制作胫骨缺损模型,使生长激素(GH)/IGF1轴受损,可观察到成骨分化标志物的水平(Col-1, ALP, OCN)明显减少,软骨内成骨途径中断。Youssef等^[17]整理发现:IGF-1与IGF-1R结合后启动下游信号磷酸化, β -亚基和由此产生的酪氨酸残基主要通过磷酸肌醇3-激酶(PI3K)、AKT/PKB和细胞外信号调节激酶(ERK1/2)启动促有丝分裂信号,进而促进细胞增殖。Chen等^[18]研究表明IGF1可以增强骨髓间充质干细胞中BMP9诱导的成骨分化,这可能是由BMP9触发的BMP/Smad信号转导所起的作用。因此,IGF可通过软骨内成骨途径促进成骨,并协同其他生长因子促进血管生成来改善骨修复。

2.3 PRP 诱导血管生成促进成骨愈合

预血管化的骨移植物可加速毛细血管在骨缺损中的长入并增强新骨的形成^[3],因此移植物的血管生成至关重要。VEGF, FGF是促进血管生成的主要生长因子,VEGF可以促进血管内皮细胞增殖,诱导新生血管形成,使成骨细胞ALP活性增强,促进骨折愈合。而FGF可以促进细胞的有丝分裂,加速血管内皮细胞增殖。研究^[19]表明:在BMSCs培养基中加入FGF-2可以促进CD31的表达并上调VEGF的表达水平,同时通过抑制RhoA/ROCK信号转导通路,在初始阶段将BMSCs分化为内皮细胞系,形成血管状结构进一步促进新骨形成。而生长因子协同使用可引起级联反应有效促进血管生成,胰岛素样生长因子结合蛋白2(IGFBP2)能在血管内皮细胞中最大程度上调VEGF-A的表达^[20]。Gianni-Barrera等^[21]发现:PDGF可以通过减少VEGF-R2的活化来调节血管新生,预防高浓度VEGF诱导的血管壁细胞丢失,保障内皮细胞的正常分化增殖,进一步形成正常血管。由此可见,血管的生成依赖于多种生长因子之间相互作用,它们彼此互补,保障血管生长的自然进程,有助于构建血管化组织工程骨。

2.4 PRP 对破骨细胞的作用

破骨细胞是起源于造血干细胞的多核巨细胞,负责骨吸收并在骨重建中起关键作用。研

究^[22]表明:巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony-stimulating factor, M-CSF)和NF- κ B受体活化因子配体(RANKL)是调节破骨细胞分化的有效刺激物,而PRP可以干扰RANKL诱导的破骨细胞分化。为明确这一机制,Wang等^[23]将骨髓来源的巨噬细胞接种在含有M-CSF(20 ng/mL)和RANKL(20 ng/mL)的培养基中,并向实验组加入1%PRP,结果显示:实验组钙化结节数量比对照组多,同时RANKL诱导的分化标志物基因NFATc1, TRAP和c-Fos以及吸收活性标志物基因Ctsk, CAR2和MMP9的表达水平明显下调,而 β -catenin和细胞周期蛋白D1表达水平明显提高,因此推测PRP通过激活 β -catenin/Wnt途径抑制RANKL表达进一步减少破骨细胞分化,使骨溶解效应减弱。此外,PRP可以促进成骨细胞骨保护素(osteoprotectin, OPG)的表达,而OPG/RANKL的比值直接影响骨重建的进程,OPG竞争性结合破骨细胞表面的RANK受体,抑制RANKL的结合,降低破骨细胞的分化,减少骨吸收^[24-25]。但Weicht等^[26]发现:使用PRS可以激活TGF- β 和p38信号的转导刺激破骨细胞生成RANKL进一步促进破骨细胞分化,这也许是PRP制备方式的不同引起所含组分的差异所致。在未来的使用中,我们应优化PRP制备方法,使生长因子的配比更加合理,最大程度的发挥成骨效应,并减弱破骨细胞的骨溶解作用。

2.5 PRP 的其他作用机制

PRP富含纤维连接蛋白,玻连蛋白及纤维蛋白原,可在骨愈合和细胞迁移时起重要的支架作用。Kidwai等^[27]发现纤维蛋白原与表面整合素(α 9 β 1)结合通过SMAD1/5/8信号通路介导RUNX2基因的表达以促进成骨,且纤维蛋白原诱导hESC/iPSC衍生的成骨细胞保留了表达成骨标志物的能力。此外,PRP和rhBMP2协同作用对兔颅骨中的移植物具有高度骨诱导性^[9,28],表明rhBMP-2通过刺激PRP产生生长因子来作用于骨祖细胞,两者共同使用作用更为明显。

2014年,Torreggiani等^[29]首次分离出PL来源的外泌体(PL-Exos),相较于PL,PL-Exos内生长因子更加富集,可以剂量依赖的方式促进BMSCs的增殖、迁移和成骨分化。表明外泌体作为PL的细胞间载体可以更好的传递生长因子及小RNA。Tao等^[30]使用PRP-Exos治疗股骨头坏死,发现在体外实验中,PRP-Exos可以通过激活Akt/GSK-3 β / β -catenin信号转导途径稳定 β -catenin的表达同时保

留BMSCs和其他前成骨细胞的成骨能力, 并通过激活Akt/Bad/Bcl-2/Caspase-3信号转导途径抑制细胞凋亡。此外, 研究^[31]表明: PRP-Exos可以激活PI3K/Akt和Erk通路有效诱导内皮细胞和成纤维细胞的增殖和迁移, 以改善血管生成, 更好地促进成骨。PRP-Exos具有承载大量生长因子及小RNA的能力, 保护内容物免受酶或化学物质的降解, 并突破了对自体血小板的需求, 进一步降低了免疫原性, 甚至可以跨物种使用, 为骨缺损治疗带来新的方法。

3 PRP 在骨修复方面的应用

生长因子价格昂贵且制备工艺复杂, 多取自外源性生物体, 存在免疫排斥反应及感染风险, PRP来源自体, 具备自体移植安全性及制备可行性, 伴随骨缺损治疗理念的进步, 为大段骨缺损治疗带来希望。

3.1 PRP 复合骨移植治疗骨缺损

植骨是目前骨缺损治疗的主要方式, Kökdere等^[32]在兔胫骨上制做骨缺损, 并依次填充自体骨、富含血小板的纤维蛋白(platelet-rich fibrin, PRF)、PRF复合自体骨, 在术后30 d及60 d观察到PRF复合自体骨组与PRF组成骨细胞数及新骨面积明显优于其他组, 表明PRF可增加新骨形成, 促进早期骨愈合。强毅等^[33]使用PRP复合同种异体骨治疗非感染性骨不连, 相较自体骨组缩短了手术时间, 减少了自体取骨的并发症, 并取得了良好的骨愈合率, 为骨不连治疗提供了新的方案。Peng等^[34]使用PRP复合无机牛骨填充牙种植体周围骨间隙, 在2, 4, 6周行组织学检查发现相较于对照组, 实验组种植体周围骨长入情况欠佳, 表明PRP复合异种骨可能会造成骨愈合延迟。

3.2 PRP 复合生物材料治疗骨缺损

生物材料的发展解决了骨移植来源局限的问题, 但其仅具备骨传导性, 缺乏骨诱导性。Galanis等^[35]使用PRP复合脱矿骨基质治疗兔尺骨缺损, 术后12周使用PRP复合脱矿骨基质组获得了良好的骨生长, 而PRP组和空白组仍有大面积缺损, 表明PRP与骨传导支架复合使用才能促进骨愈合。Hakimi等^[36]使用骨髓浓缩物(BMC)+磷酸钙颗粒(CPG)+PRP组治疗猪胫骨骨缺损, 相较于BMC+CPG组和CPG组有更多的新骨形成, 并且与自体骨组比较无明显差异。Song等^[37]在纳米双相

磷酸钙聚乙烯醇复合材料中加入PRF能增加BMSCs黏附和增殖, 上调ALP, Col1A1, OPN和Runx-2的基因表达, 展现了更好的骨缺损修复能力, 因此提出PRF可提高生物材料的组织相容性和骨诱导性。Shiga等^[38]使用冻干PRP复合人工骨用于大鼠腰椎融合, 结果显示术后8周冻干PRP复合人工骨联合应用可显著加速椎间融合, 并且其融合后骨的机械强度与使用自体骨及新鲜PRP复合人工骨无明显差异, 表明冻干PRP保留了良好的促进成骨能力, 可预先制备使用, 解决了PRP半衰期短的弊端。

3.3 PRP 复合干细胞治疗骨缺损

BMSCs是目前组织工程中最重要种子细胞, 其具有分化成多种细胞的潜力、提取方便、快速增殖, 不易引起抗原排斥反应等优点。Wei等^[39]在切除卵巢的大鼠胫骨上制做骨缺损模型, 发现PRP/BMSCs组相较于其他组成骨基因(RUNX2, OSX和OPN)的表达水平明显提高, 新骨形成更多更加成熟, 表明PRP与BMSCs联合使用可以促进骨缺损的愈合, 为骨质疏松性骨缺损的治疗提供了新的方案。Wang等^[40]使用间充质干细胞片, 羟基磷灰石(HA)和富含血小板的纤维蛋白颗粒的复合物用于兔颅骨缺损, 在术后8周显示较MSCs组及空白组, 实验组取得了显著的新骨再生能力, 提示PRF+干细胞+生物材料可更好发挥成骨特性, 但实验并未确定3种材料如何配比最为有效, 这有待于进一步研究。

4 结语

PRP以其促进血管生成、成骨细胞增殖、抑制破骨细胞分化等作用可显著促进骨愈合, 有着广泛的应用前景, 众多研究围绕PRP展开并取得一系列成果, 如PRP联合电磁脉冲使用可减少假体周围骨溶解, 但其在应用中还存在诸多问题: 1)PRP的制备方法众多, 但存在一定的局限性, 现有方法制备的PRP半衰期较短, 需即刻使用, 不易保存且对自体血小板需求较高, 同时存在制备的PRP多为液体容易流失及血小板破坏等问题。因此需形成一套高效稳定的PRP制备方法。2)PRP的有效浓度以及激活方式没有统一标准。PRP浓度的改变将影响生长因子的含量, 4~8倍于全血的浓度是最好的促进成骨细胞增殖的浓度, 过高的浓度可抑制成骨^[41], 直接影响预后, 当前广泛使用的PRP激活剂有氯化钙、凝血酶。其中凝血酶均为

异源性, 有报道^[42]指出, 牛凝血酶的使用可能产生因子V和XI的抗体, 可增加凝血障碍的风险。3) PRP的使用剂量和使用频率没有统一的指南, 如何在缺损区域维持足够生长因子浓度的问题尚未解决。研究^[42]表明: 连续注射往往可以取得更好的效果, 一般推荐间隔时间为1~3周, 2~3次注射为1疗程。4) PRP中生长因子的具体比例以及如何协同作用以最大程度地发挥成骨效应的机制尚未明确。5) 随着生物材料及干细胞技术的发展, 联合何种材料并以何种比例复合使用的问题尚未解决。大量研究证实了PRP的有效性及其安全性, 为帮助骨修复、缩短骨愈合时间提供了新的治疗方案, 但也存在使用后无效的研究结果, 因此还需大量的研究证实其使用效果。随着PRP制备技术的改良, 临床应用指南的逐步制订, 生长因子及PRP-Exos作用机制的深入研究, 上述问题都将得到妥善解决, 相信PRP在骨修复方面将会得到更广泛的应用。

参考文献

- Fernandez de Grado G, Keller L, Idoux-Gillet Y, et al. Bone substitutes: a review of their characteristics, clinical use, and perspectives for large bone defects management[J]. *J Tissue Eng*, 2018, 9(3): 2041731418776819.
- Zumarán CC, Parra MV, Olate SA, et al. The 3 R's for platelet-rich fibrin: a "super" tri-dimensional biomaterial for contemporary naturally-guided oro-maxillo-facial soft and hard tissue repair, reconstruction and regeneration[J]. *Materials (Basel)*, 2018, 11(8): E1293.
- Gawai KT, Sobhana CR. Clinical evaluation of use of platelet rich plasma in bone healing[J]. *J Maxillofac Oral Surg*, 2015, 14(1): 67-80.
- Fioravanti C, Frustaci I, Armellini E, et al. Autologous blood preparations rich in platelets, fibrin and growth factors[J]. *Oral Implantol (Rome)*, 2016, 8(4): 96-113.
- Aloui C, Chakroun T, Prigent A, et al. Leucocyte cytokines dominate platelet cytokines over time in non-leucoreduced platelet components[J]. *Blood Transfus*, 2018, 16(1): 63-72.
- Bastidas-Coral AP, Bakker AD, Zandieh-Doulabi B, et al. Cytokines TNF- α , IL-6, IL-17F, and IL-4 differentially affect osteogenic differentiation of human adipose stem cells[J]. *Stem Cells Int*, 2016, 2016: 1318256.
- Yin W, Qi X, Zhang Y, et al. Advantages of pure platelet-rich plasma compared with leukocyte- and platelet-rich plasma in promoting repair of bone defects[J]. *J Transl Med*, 2016, 14(1): 73-92.
- Qian Y, Han Q, Chen W, et al. Platelet-rich plasma derived growth factors contribute to stem cell differentiation in musculoskeletal regeneration[J]. *Front Chem*, 2017, 5: 89.
- Lai F, Kakudo N, Morimoto N, et al. Platelet-rich plasma enhances the proliferation of human adipose stem cells through multiple signaling pathways[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 107-117.
- Zhang M, Yu W, Niibe K, et al. The effects of platelet-derived growth factor-BB on bone marrow stromal cell-mediated vascularized bone regeneration[J]. *Stem Cells Int*, 2018, 2018: 3272098.
- Li A, Xia X, Yeh J, et al. PDGF-AA promotes osteogenic differentiation and migration of mesenchymal stem cell by down-regulating PDGFR α and derepressing BMP-Smad1/5/8 signaling[J]. *PLoS One*, 2014, 9(12): e113785.
- Liang T, Zhu L, Gao W, et al. Coculture of endothelial progenitor cells and mesenchymal stem cells enhanced their proliferation and angiogenesis through PDGF and Notch signaling[J]. *Febs Open Bio*, 2017, 7(11): 1722-1736.
- Rys JP, Monteiro DA, Alliston T. Mechanobiology of TGF β signaling in the skeleton[J]. *Matrix Biol*, 2016, 52-54: 413-425.
- Sun BY, Zhao BX, Zhu JY, et al. Role of TGF- β 1 expressed in bone marrow derived mesenchymal stem cells in promoting bone formation in a rabbit femoral defect model[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(2): 897-904.
- Sawada S, Chosa N, Takizawa N, et al. Establishment of mesenchymal stem cell lines derived from the bone marrow of green fluorescent protein-transgenic mice exhibiting a diversity in intracellular transforming growth factor- β and bone morphogenetic protein signaling[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(3): 2023-2031.
- Wang T, Wang Y, Menendez A, et al. Osteoblast-specific loss of IGF1R signaling results in impaired endochondral bone formation during fracture healing[J]. *J Bone Miner Res*, 2015, 30(9): 1572-1584.
- Youssef A, Aboalola D, Han VK. The roles of insulin-like growth factors in mesenchymal stem cell niche[J]. *Stem Cells Int*, 2017, 2017: 9453108.
- Chen L, Zou X, Zhang RX, et al. IGF1 potentiates BMP9-induced osteogenic differentiation in mesenchymal stem cells through the enhancement of BMP/Smad signaling[J]. *BMB Rep*, 2016, 49(2): 122-127.
- Li D, Cheng P, Jiang H, et al. Vascularization converts the lineage fate of bone mesenchymal stem cells to endothelial cells in tissue-engineered bone grafts by modulating FGF2-RhoA/ROCK signaling[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(10): 959-977.
- Bussche L, Van d W G R. Peripheral blood-derived mesenchymal stromal cells promote angiogenesis via paracrine stimulation of vascular endothelial growth factor secretion in the equine model[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2014, 3(12): 1514-1525.

21. Gianni-Barrera R, Butschkau A, Uccelli A, et al. PDGF-BB regulates splitting angiogenesis in skeletal muscle by limiting VEGF-induced endothelial proliferation[J]. *Angiogenesis*, 2018, 21(4): 883-900.
22. Cenni E, Avnet S, Fotia C, et al. Platelet-rich plasma impairs osteoclast generation from human precursors of peripheral blood[J]. *J Orthop Res*, 2010, 28(6): 792-797.
23. Wang D, Weng Y, Guo S, et al. Platelet-rich plasma inhibits RANKL-induced osteoclast differentiation through activation of Wnt pathway during bone remodeling[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(2): 729-738.
24. Chang IC, Tsai CH, Chang YC. Platelet-rich fibrin modulates the expression of extracellular signal-regulated protein kinase and osteoprotegerin in human osteoblasts[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2010, 95(1): 327-332.
25. Kapasa ER, Giannoudis PV, Jia X, et al. The effect of RANKL/OPG balance on reducing implant complications[J]. *J Funct Biomater*, 2017, 8(4): 42-52.
26. Weicht B, Maitz P, Kandler B, et al. Activated platelets positively regulate RANKL-mediated osteoclast differentiation[J]. *J Cell Biochem*, 2007, 102(5): 1300-1307.
27. Kidwai F, Edwards J, Zou L, et al. Fibrinogen induces RUNX2 activity and osteogenic development from human pluripotent stem cells[J]. *Stem Cells*, 2016, 34(8): 2079-2089.
28. Egashira K, Sumita Y, Zhong W, et al. Bone marrow concentrate promotes bone regeneration with a suboptimal-dose of rhBMP-2[J]. *PLoS One*, 2018, 13(1): e0191099.
29. Torreggiani E, Perut F, Roncuzzi L, et al. Exosomes: novel effectors of human platelet lysate activity[J]. *Eur Cell Mater*, 2014, 28: 137-151.
30. Tao SC, Yuan T, Rui BY, et al. Exosomes derived from human platelet-rich plasma prevent apoptosis induced by glucocorticoid-associated endoplasmic reticulum stress in rat osteonecrosis of the femoral head via the Akt/Bad/Bcl-2 signal pathway[J]. *Theranostics*, 2017, 7(3): 733-750.
31. Guo SC, Tao SC, Yin WJ, et al. Exosomes derived from platelet-rich plasma promote the re-epithelization of chronic cutaneous wounds via activation of YAP in a diabetic rat model[J]. *Theranostics*, 2017, 7(1): 81-96.
32. Kökdere NN, Baykul T, Findik Y. The use of platelet-rich fibrin (PRF) and PRF-mixed particulated autogenous bone graft in the treatment of bone defects: An experimental and histomorphometrical study[J]. *Dent Res J (Isfahan)*, 2015, 12(5): 418-424.
33. 强毅, 袁志, 段春光, 等. 富血小板血浆联合同种异体骨治疗非感染性骨不连的临床应用[J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(11): 2087-2090.
34. QIANG Yi, YUAN Zhi, DUAN Chunguang, et al. Clinical application of platelet-rich plasma (PRP) and artificial bone complex in treatment of bone non-union[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2016, 16(11): 2087-2090.
35. Peng W, Kim IK, Cho HY, et al. The healing effect of platelet-rich plasma on xenograft in peri-implant bone defects in rabbits[J]. *Maxillofac Plast Reconstr Surg*, 2016, 38(1): 16-25.
36. Galanis V, Fiska A, Kapetanakis S, et al. Effect of platelet-rich plasma combined with demineralised bone matrix on bone healing in rabbit ulnar defects[J]. *Singapore Med J*, 2017, 58(9): 551-556.
37. Hakimi M, Grassmann JP, Betsch M, et al. The composite of bone marrow concentrate and PRP as an alternative to autologous bone grafting[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e100143.
38. Song Y, Lin K, He S, et al. Nano-biphasic calcium phosphate/polyvinyl alcohol composites with enhanced bioactivity for bone repair via low-temperature three-dimensional printing and loading with platelet-rich fibrin[J]. *Int J Nanomedicine*, 2018, 13: 505-523.
39. Shiga Y, Orita S, Kubota G, et al. Freeze-dried platelet-rich plasma accelerates bone union with adequate rigidity in posterolateral lumbar fusion surgery model in rats[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 36715.
40. Wei B, Huang C, Zhao M, et al. Effect of mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma on the bone healing of ovariectomized rats[J]. *Stem Cells Int*, 2016, 2016: 9458396.
41. Wang X, Li G, Guo J, et al. Hybrid composites of mesenchymal stem cell sheets, hydroxyapatite, and platelet-rich fibrin granules for bone regeneration in a rabbit calvarial critical-size defect model[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 13(5): 1891-1899.
42. Yuan T, Zhang CQ, Wang JH, et al. Augmenting tendon and ligament repair with platelet-rich plasma (PRP)[J]. *Muscles Ligaments Tendons J*, 2013, 3(3): 139-149.
43. Zhang N, Wu YP, Qian SJ, et al. Research progress in the mechanism of effect of PRP in bone deficiency healing[J]. *Scientific World Journal*, 2013, 2013: 134582.

本文引用: 刘洋, 王文波. 富血小板血浆在骨修复中的机制及应用[J]. *临床与病理杂志*, 2019, 39(9): 2041-2046. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.09.031

Cite this article as: LIU Yang, WANG Wenbo. Mechanism and application of platelet-rich plasma in bone repair[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2019, 39(9): 2041-2046. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.09.031