

## 碱性成纤维细胞生长因子/双层胶原基复合材料制备及其生物安全性\*\*☆◆

王建华<sup>1</sup>, 李学敏<sup>1</sup>, 陶晓军<sup>1</sup>, 陈晖娟<sup>1</sup>, 史佳巍<sup>1</sup>, 刘玲蓉<sup>1</sup>, 张其清<sup>1,2</sup>

## Preparation and biological safety of basic fibroblast growth factor/double-layered collagen composite

Wang Jian-hua<sup>1</sup>, Li Xue-min<sup>1</sup>, Tao Xiao-jun<sup>1</sup>, Chen Hui-juan<sup>1</sup>, Shi Jia-wei<sup>1</sup>, Liu Ling-rong<sup>1</sup>, Zhang Qi-qing<sup>1,2</sup>

## Abstract

**BACKGROUND:** Collagen is a common used scaffold in tissue engineering, its specific molecular structure and biological activity are conducive to a variety of cell adhesion, proliferation and differentiation, and can speed up wound healing and degradation to provide sufficient space for new tissues.**OBJECTIVE:** To prepare a kind of inhomogeneous double layered collagen composite incorporated with basic fibroblast growth factor (bFGF) loaded chitosan-heparin (CS-Hep) nanoparticles, and to evaluate its biological safety.**METHODS:** The air-dried dense layer collagen membranes and freeze-dried loose layer collagen membrane were prepared respectively and then cross-linked by D-ribose (termed as CAM and CFM respectively). CS-Hep nanoparticles were prepared and then dropped on the surface of CFM. The wet CAM was laid on the surface of CFM with nanoparticles, and then air dried completely at 4 °C. The obtained material was termed as bDM. Its physical and chemical properties were investigated. In addition, its bio-safety was also examined through acute systemic toxicity, pyrogen, hemolysis and cellular toxicity tests.**RESULTS AND CONCLUSION:** The bFGF/double-layered collagen composite was made up of double layers with one dense layer (CAM) and another loose layer (CFM). As part of bDM, CS-Hep nanoparticles with irregular global shape were aligned in the scope of D-period structure of the inner surface of CFM; the bFGF/double-layered collagen composite had no systemic acute toxicity, no cytotoxicity and pyrogen reactions as well as no hemolytic effect. The bFGF/double-layered collagen composite is prepared and found to have good biocompatibility and safety. Moreover, this material conforms to the ISO 10993-1, and can be used as a basic scaffold material in tissue engineering.Wang JH, Li XM, Tao XJ, Chen HJ, Shi JW, Liu LR, Zhang QQ. Preparation and biological safety of basic fibroblast growth factor/double-layered collagen composite. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(47): 8801-8804. [<http://www.crter.cn> <http://en.zglckf.com>]

## 摘要

**背景:** 胶原特殊的分子结构和生物活性有利于多种细胞黏附、增殖和分化,并可降解为新生组织提供足够空间。**目的:** 制备一种复合负载碱性成纤维细胞生长因子的壳聚糖-肝素纳米粒子双层胶原基复合材料,并评价其生物安全性。**方法:** 制备交联风干胶原膜和交联冻干胶原膜。将壳聚糖-肝素纳米粒滴于交联冻干胶原膜上,再将湿态交联风干胶原膜置于复合纳米粒子的交联冻干胶原膜上风干,即碱性成纤维细胞生长因子/双层胶原基复合材料。采用急性全身毒性试验、溶血试验、热原试验和细胞毒性试验评价其生物安全性。**结果与结论:** 碱性成纤维细胞生长因子/双层胶原基复合材料为双层结构,一侧表面致密,另一侧疏松多孔。在其中间负载碱性成纤维细胞生长因子的壳聚糖-肝素纳米粒子呈不规则球形分布于胶原膜内侧面;急性全身毒性试验、热原试验、溶血试验均为阴性,细胞毒性为0级。说明碱性成纤维细胞生长因子/双层胶原基复合材料具有良好的生物安全性,对机体无毒,符合ISO 10993-1评价标准。**关键词:** 碱性成纤维细胞生长因子;胶原;壳聚糖;肝素;纳米粒子;生物安全性

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.47.015

王建华, 李学敏, 陶晓军, 陈晖娟, 史佳巍, 刘玲蓉, 张其清. 碱性成纤维细胞生长因子/双层胶原基复合材料制备及其生物安全性[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(47):8801-8804. [<http://www.crter.org> <http://cn.zglckf.com>]

## 0 引言

软骨缺损修复是一个多种生长因子参与的复杂过程,碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)在软骨的生长、发育、分化、骨化过程中有重要的调节作用,在软骨缺损修复中显示了良好的应用前景<sup>[1-2]</sup>,但bFGF为蛋白质,使用时易降解,半衰期短,并且其生物活性发挥具有剂量依赖性,为更充分发挥bFGF生物学活性,既可包载生长因子,又能根据生物需要量以适宜速度缓慢释放生长

因子的控缓释支架材料应运而生。

胶原是细胞外基质的主要成分,属于结构蛋白质,约占哺乳动物蛋白质总质量的1/3。其特有的三重螺旋结构赋予它良好的生物学性能,如高拉伸强度、生物降解性能、低抗原活性、低刺激性和低细胞毒以及促进细胞生长的性能,所具有的这些特性都使其成为一种理想的生物医用材料和药物载体<sup>[3-6]</sup>。已成功地被用于作为组织的引导材料、可降解缝线和止血海绵、人工皮肤代用品、人工血管、人工肌腱、人工晶体、眼角膜损伤治疗、骨支架材料等多个方面<sup>[7-9]</sup>。

<sup>1</sup>Institute of Biomedical Engineering, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, the Key Laboratory of Biomedical Material of Tianjin, Tianjin 300192, China;  
<sup>2</sup>Research Center of Biomedical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian Province, China

Wang Jian-hua☆, Doctor, Institute of Biomedical Engineering, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, the Key Laboratory of Biomedical Material of Tianjin, Tianjin 300192, China  
mwangjianhua@yahoo.com.cn

Correspondence to: Zhang Qi-qing, Researcher, Doctoral supervisor, Institute of Biomedical Engineering, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, the Key Laboratory of Biomedical Material of Tianjin, Tianjin 300192, China; Research Center of Biomedical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian Province, China  
zhangqiq@xmu.edu.cn

Supported by: the Tackle Key Program of Tianjin Municipal Science and Technology Commission, No. 08ZCKFSF02100\*; Doctoral Station Foundation, No. 20101106110042\*

Received: 2011-07-05  
Accepted: 2011-08-04

<sup>1</sup> 中国医学科学院生物医学工程研究所, 天津市生物材料重点实验室, 天津市 300192; <sup>2</sup> 厦门大学生物医学工程研究中心, 材料学院生物材料系, 福建省生物医学工程重点实验室, 厦门市生物医学工程技术研究中心, 福建省厦门市 361005

王建华☆, 男, 1973年生, 山东省临沂市人, 汉族, 2011年北京协和医学院毕业, 博士, 主要从事生物材料和组织工程研究。  
mwangjianhua@yahoo.com.cn

通讯作者: 张其清, 研究员, 博士生导师, 中国医学科学院生物医学工程研究所, 天津市生物材料重点实验室, 天津市 300192  
zhangqiq@xmu.edu.cn

中图分类号: R318  
文献标识码: B  
文章编号: 1673-8225 (2011)47-08801-04

收稿日期: 2011-07-05  
修回日期: 2011-08-04  
(20110504006/GW W)

本实验根据胶原良好的生物活性和自身特点<sup>[10-14]</sup>, 尝试从改造支架材料本身角度研制bFGF/双层胶原基复合材料, 并评价了该复合材料的生物安全性。

## 1 材料和方法

**设计:** 观察对比实验。

**时间及地点:** 于2010-07/2011-04在中国医学科学院生物医学工程研究所完成。

**材料:**

**实验动物:** SPF级昆明种小鼠20只, 雌雄各半, 体质量17~23 g, 用于全身急性毒性试验, 生产许可证号SCXK(津)2005-0001; 日本大耳白兔, 用于溶血试验和热原试验, 使用许可证号SYXK(津)2006-0001, 均购自中国医学科学院放射医学研究所。

**主要试剂及细胞:**

试剂及细胞	来源
胶原蛋白溶胀液	本实验室按常规酶消化法提取
无花果蛋白酶(Ficin)、四甲基偶氮唑蓝(MTT)	Sigma 公司
D-核糖	合肥博美生物科技有限公司
bFGF	北京百奥瑞普生物技术有限公司
壳聚糖( $M_n 10 \times 10^4$ , 脱乙酰度 90%, 批号: D070527107)	浙江金壳生物化学有限公司
肝素(150 U/mg)	北京普博生物科技有限公司
细胞试验靶细胞 L-929 小鼠成纤维细胞	中国医学科学院生物医学工程研究所传代培养细胞株
RPMI 1640 培养液及胎牛血清	Solarbio 公司

**实验方法:**

**bFGF/双层胶原基复合材料的制备:** 将胶原蛋白溶胀液用0.3%丙二酸稀释至质量分数0.6%, 4 °C风干, 即得风干胶原膜; 风干胶原膜置交联液中交联并再次风干, 即得交联后风干胶原膜。交联液配方: 0.2 mol/L核糖+10%丙酮+2%氨水。将0.6%胶原溶胀液加入容器中, -40 °C预冻后真空冷冻干燥, 取出后压平, 即得冻干胶原膜。冻干的原膜置交联液中交联后再次真空冷冻干燥, 即得交联后冻干胶原膜。

在1 g/L肝素溶液中加入100 ng/cm<sup>2</sup>量加入bFGF, 混合过夜。700 r/min搅拌条件下将2 mL pH值6.0的2 g/L壳聚糖-乙酸溶液滴入1 g/L肝

素溶液中(5 mL), 滴速20滴/min, 得到负载bFGF的壳聚糖-肝素纳米粒子。

将交联后冻干胶原膜双蒸水润湿后平铺, 在其表面缓慢滴加负载bFGF的壳聚糖-肝素纳米粒子, 4 °C下风干至表面无流动液体, 再将交联后风干胶原膜润湿后铺平于交联后冻干胶原膜表面, 4 °C下彻底风干, 即得负载bFGF的胶原基复合材料。在超净工作台中, 将bFGF/双层胶原基复合材料平铺在洁净玻璃板上, 切成20 mm×10 mm长条薄片, 厚约1 mm, 密封包装, 25 kGy辐照剂量γ射线灭菌, -20 °C保存备用。

**复合材料超微结构观察:** 将bFGF/双层胶原基复合材料进行扫描电镜超微结构观察, 分别观察横截面和复合壳聚糖-肝素纳米粒子的交联后冻干胶原膜形貌。

**材料浸提液制备:** 将已灭菌受试材料放入去热原50 mL锥形瓶中, 按受试材料表面积: 浸提介质=1 cm<sup>2</sup>: 1 mL比例, 分别加入含体积分数10%胎牛血清RPMI 1640培养液(用于细胞毒性试验)和9 g/L氯化钠注射液(用于溶血试验、热原试验和急性全身毒性试验), 置于37 °C恒温培养箱中浸提24 h后移至4 °C冰箱保存备用。

**pH值测定:** 检验液制备同浸提液。取检验液和空白对照液用酸度计分别测定其pH值。

**全身急性毒性试验:** 选取健康昆明种小鼠20只, 应用随机数字表法将动物分成实验组和对照组, 每组10只, 雌雄各5只。实验组腹腔注射材料浸提液50 mL/kg、对照组同法注射同批号无菌9 g/L氯化钠注射液50 mL/kg, 于注射后4, 24, 48, 72 h观察动物一般状态、毒性反应及死亡情况。具体判断标准如下: 无毒, 无任何异常症状; 轻度毒性, 有呼吸困难或腹部刺激轻度症状, 但无运动减少; 中度毒性, 呼吸困难、腹部刺激症状、运动减少、眼睑下垂、腹泻、体质量降至15~17 g; 死亡, 注射后死亡。

**体外溶血试验:** 取雌性日本大耳白兔1只, 体质量2.6 kg, 心脏采血12 mL, 加肝素钠抗凝。取新鲜抗凝血8 mL, 加9 g/L氯化钠注射液10 mL稀释。

实验分3组, 分别阴性对照组、阳性对照组和实验组。①实验组3份: 每份样品管中加入材料浸提液10 mL, 置于恒温水浴中37 °C保温30 min后, 每只试管各加稀释兔血0.2 mL, 轻轻混匀, 继续放在37 °C恒温水浴内60 min。②阳性对照3份: 用蒸馏水10 mL加稀释兔血0.2 mL, 保温条件及步骤与实验管相同。③阴性对照3

份: 用9 g/L氯化钠溶液10 mL加稀释兔血0.2 mL, 保温条件及步骤与实验管相同。以上各管2 500 r/min离心5 min, 分别吸取上清液, 用Beckman酶标仪于545 nm波长处测定各管吸光度值。

$$\text{溶血率}(\%) = \frac{D_t - D_{nc}}{D_{pc} - D_{nc}} \times 100\%$$

式中  $D_t$  为实验组样品吸光度值,  $D_{nc}$  为阴性对照吸光度值,  $D_{pc}$  为阳性对照吸光度值。

**细胞毒性试验:** 用1640培养基配制 $6 \times 10^7 L^{-1}$ 处于对数生长期L-929小鼠成纤维细胞悬液, 分别加入96孔塑料培养皿内, 每孔100  $\mu L$ , 置于体积分数5%  $CO_2$ 培养箱37  $^{\circ}C$ 培养24 h。24 h后弃去原培养基, PBS洗涤2次。分组培养: 实验组加入100  $\mu L$  100%浸提液和新鲜培养基100  $\mu L$ , 阴性对照组加入9 g/L氯化钠注射液和100  $\mu L$ 新鲜培养基, 阳性对照组加入含0.1%苯酚新鲜培养基200  $\mu L$ , 培养2, 4, 6 d种板, 每组平行6孔。用于4 d和6 d测试的96孔板分别于培养后的第72, 120小时换液一二次。

终止培养前每孔加入5 g/L的MTT溶液20  $\mu L$ , 继续培养4 h, 吸出原培养液, 每孔加入150  $\mu L$  DMSO, 振荡10 min, 以酶标仪于492 nm波长测定 $A_{492}$ 值。计算相对增殖率(RGR)。

$$RGR(\%) = \frac{\text{各实验组 } A_{492} \text{ 均值}}{\text{阴性对照组 } A_{492} \text{ 均值}} \times 100\%$$

**热原试验:** 取日本大耳白兔6只, 体质量2.4~2.6 kg, 实验前连续测量1周肛温, 选用其中3只体温合格动物做正式实验。实验前间隔1 h测肛温2次, 2次温度之差未超过0.2  $^{\circ}C$ , 其平均值为该兔的正常体温。然后自耳缘静脉注射预热至37  $^{\circ}C$ 的材料浸提液, 剂量为10 mL/kg。注射后每隔1 h测肛温1次, 共3次, 并以3次体温中最高一次减去正常体温作为该兔体温升高值。

**主要观察指标:** ①复合材料超微结构及材料浸提液pH值。②复合材料全身急性毒性试验、体外溶血试验、细胞毒性试验、热原试验结果。

## 2 结果

### 2.1 复合材料性状及理化性能

**性状:** bFGF/双层胶原基复合材料外观为黄白色, 厚约1 mm, 双侧质地明显不同, 一侧致密、坚韧, 另一侧疏松多孔, 中间复合负载bFGF的壳聚糖-肝素纳米粒子(平均粒径149.5 nm, Zeta电位-38.9 mV)。从复合材料横截面扫描电镜图片可以看出, 材料由两层复合而成, 交联后风干胶原膜侧为致密不平整膜状结构, 孔隙结构较少; 交联后冻干胶原膜侧为多孔结构, 层间结合紧密, 交界处无明显分界, 结果见图1。

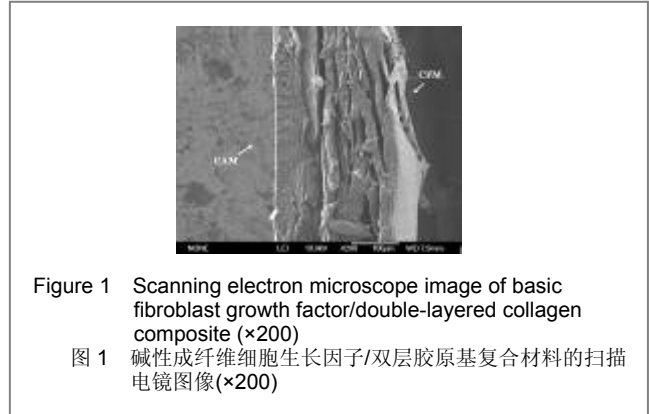


Figure 1 Scanning electron microscope image of basic fibroblast growth factor/double-layered collagen composite ( $\times 200$ )

图1 碱性成纤维细胞生长因子/双层胶原基复合材料的扫描电镜图像( $\times 200$ )

壳聚糖-肝素纳米粒子与交联后冻干胶原膜结合紧密, 呈不规则球形分布于交联后冻干胶原膜内表面胶原纤维区间, 结果见图2。

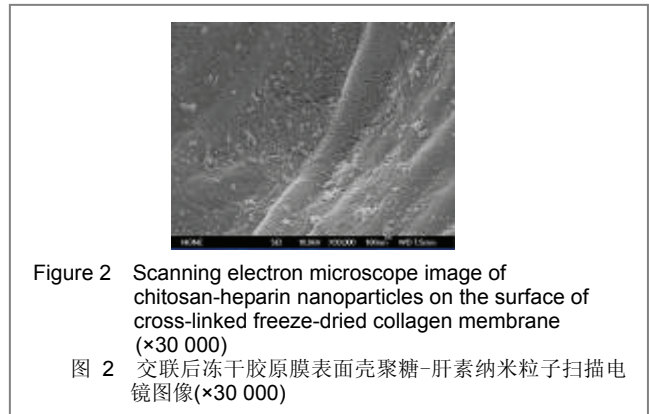


Figure 2 Scanning electron microscope image of chitosan-heparin nanoparticles on the surface of cross-linked freeze-dried collagen membrane ( $\times 30\ 000$ )

图2 交联后冻干胶原膜表面壳聚糖-肝素纳米粒子扫描电镜图像( $\times 30\ 000$ )

pH值测定结果: bFGF/双层胶原基复合材料浸提液pH值测定结果为 $6.55 \pm 0.13$ , 符合规定要求。

### 2.2 复合材料生物学性能检测

**全身急性毒性试验:** 在72 h观察期内, 两组动物一般状况良好, 活动、食欲均正常, 呼吸平稳, 无惊厥、瘫痪和死亡等毒性反应, 动物体质量均出现增加现象。

**溶血试验:** 实验组和阴性对照组均无溶血现象, 平均吸光度小于0.05; 阳性对照组全部溶血, 吸光度为 $0.0687 \pm 0.0073$ 。实验结果见表1。

表1 碱性成纤维细胞生长因子/双层胶原基复合材料溶血试验结果

Table 1 The results of hemolysis test of basic fibroblast growth factor /double-layered collagen composite (A)

Group	Test tube 1	Test tube 2	Test tube 3	Absorbance value	Hemolysis (%)
Experimental	0.045 2	0.047 7	0.052 4	0.048 4	0.86
Negative control	0.040 3	0.046 8	0.041 8	0.043 0	0
Positive control	0.682 7	0.683 2	0.670 3	0.678 7	-

溶血试验结果显示, 材料浸提液的溶血率为0.86%, 小于5%, 符合医用生物材料的溶血要求。

**细胞毒性试验:** 实验组细胞增殖率均在120%以上,

细胞毒性均为0级; 阳性对照组细胞增殖率均低于20%, 细胞毒性均为4级, 结果见表2。

表2 碱性成纤维细胞生长因子/双层胶原基复合材料细胞毒性试验结果  
Table 2 The results of cytotoxicity test of basic fibroblast growth factor /double-layered collagen composite

Time (d)	Group	A <sub>492</sub> (x̄±s)	RGR (%)	Cytotoxicity
2	Negative control	0.447±0.022	100.0	0
	Experimental	0.555±0.027	124.1	0
	Positive control	0.086±0.008	19.2	4
4	Negative control	0.484±0.031	100.0	0
	Experimental	0.699±0.047	144.4	0
	Positive control	0.047±0.008	9.6	4
6	Negative control	0.611±0.071	100.0	0
	Experimental	1.046±0.126	171.2	0
	Positive control	0.044±0.008	7.2	4

表明该复合材料细胞毒性为0级, 无细胞毒性作用。

热原试验: 实验兔耳缘静脉注射浸提液后, 测得3只家兔体温升高分别为0.2, 0.1, 0.2 °C, 均小于0.6 °C, 3只实验兔升温之和是0.5 °C, 其值小于1.4 °C, 见表3。

表3 碱性成纤维细胞生长因子/双层胶原基复合材料热原试验结果  
Table 3 The results of pyrogen test of basic fibroblast growth factor/ double-layered collagen composite

No.	Body weight (kg)	Basal temperature (°C)	Temperature after injection (°C)			Elevated temperature (°C)
			1 h	2 h	3 h	
1	2.5	38.7	38.8	38.9	38.9	0.2
2	2.4	38.6	38.7	38.7	38.6	0.1
3	2.6	39.1	39.3	39.2	39.2	0.2

表3结果表明该复合材料浸提液符合热原试验的评价标准。

### 3 讨论

由于bFGF为蛋白质, 应用时易被稀释或降解而失去生物学活性, 特别是在含有多种水解酶的炎性关节中, 因此如何有效发挥bFGF生物学效应制约着bFGF的进一步体内应用, 而解决这一问题可通过发展控缓释支架材料来进行。在常见的bFGF载体材料中, 由于胶原结构疏松多孔, 易于被制成多种结构<sup>[3-4,6]</sup>, 可被用于bFGF的储存库。胶原结合aFGF、bFGF等生长因子主要通过与肝素等多聚阴离子相互作用, 或通过一系列生物素化提供化学键方式进行, 并与胶原结构明显相关。

本实验设计制造了一种能定向控缓释蛋白因子的复合材料。在扫描电镜下可以看到材料由双层制造工艺和结构均不同的胶原膜构成, 一侧致密、坚韧, 另一侧疏松多孔, 中间复合包载bFGF的壳聚糖-肝素纳米粒

子。在双层中间, 纳米粒子与交联后冻干胶原膜结合紧密, 呈不规则球形较均匀分布于胶原纤维区间。这种结构从设计上保证了对负载的bFGF具有定向差异控缓释作用, 使其表现出空间释放梯度, 较好的防止了生长因子的突释现象和浪费, 并有效避免了其无序释放可能造成的不可预见后果。

通过系统的理化检测和生物学评价研究发现, bFGF/双层胶原基复合材料pH值为6.55±0.13, 接近中性; 急性全身毒性试验、热原试验、溶血试验均为阴性, 细胞毒性为0级, 说明本材料具有良好的生物安全性, 对机体无毒, 对细胞有较强的亲和作用, 利于细胞的生长和分化。也从另一侧面表明了虽然在材料制备过程中使用了丙酮和氨水等化学试剂, 但在随后的清洗和干燥过程中已完全消除, 是一种非常安全的病缺损组织修复材料, 有望在软骨组织工程领域得到广泛的应用。

### 4 参考文献

- [1] Liu XY, Tang JW, Sun HL. Zhongguo Linchuang Kangfu. 2004;8(2): 238-239. 刘晓阳, 孙洪亮, 汤继文. 碱性成纤维细胞生长因子对培养的半月板纤维软骨细胞的促进增殖作用[J]. 中国临床康复, 2004, 8(2): 238-239.
- [2] Yu L, Wu FL, Wang ZY. Zhongguo Shengwu Gongcheng Zhanzhi. 2005;25(2):19-24. 吴凤麟, 宇丽, 汪卓斌. 碱性成纤维细胞生长因子对生长板软骨细胞增殖与分化的影响[J]. 中国生物工程杂志, 2005, 25(2): 19-24.
- [3] Yang XB, Bhatnagar RS, Li S, et al. Biomimetic collagen scaffolds for human bone cell growth and differentiation. Tissue Eng. 2004; 10(7-8):1148-1159.
- [4] Faraj KA, van Kuppevelt TH, Daamen WF. Construction of collagen scaffolds that mimic the three-dimensional architecture of specific tissues. Tissue Eng. 2007;13(10): 2387-2394.
- [5] Natsume T, Ike O, Okada T, et al. Porous collagen sponge for esophageal replacement. J Biomed Mater Res. 1993;27(7): 867.
- [6] Stark Y, Suck K, Kasper C, et al. Application of collagen matrices for cartilage tissue engineering. Exp Toxicol Pathol. 2006;57(4): 305-311.
- [7] Zhang Y, Cheng X, Wang J, et al. Novel chitosan/collagen scaffold containing transforming growth factor-beta1 DNA for periodontal tissue engineering. Biochem Biophys Res Commun. 2006;344(1): 362-369.
- [8] Gu HQ. Tianjin: Tianjin Keji Fanyi Chubanshe. 1993: 119-129, 316-330. 顾汉卿, 徐国风. 生物医学材料学[M]. 天津: 天津科技翻译出版公司, 1993: 119-129, 316-330.
- [9] Rouhi AM. Contemporary biomaterials. Chem Eng News. 1999;18: 51.
- [10] Abraham LC, Zuena E, Perez-Ramirez B, et al. Guide to collagen characterization for biomaterial studies. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2008;87 (1):264-285.
- [11] Lee CH, Singla A, Lee Y. Biomedical applications of collagen. Int J Pharm. 2001;221(1-2):1-22.
- [12] Przybyla DE, Chmielewski J. Higher-order assembly of collagen peptides into nano- and microscale materials. Biochemistry. 2010; 49 (21):4411-4419.
- [13] Ramshaw JA, Peng YY, Glattauer V, et al. Collagens as biomaterials. J Mater Sci Mater Med. 2009;20 Suppl 1:S3-8.
- [14] Wolf K, Alexander S, Schacht V, et al. Collagen-based cell migration models in vitro and in vivo. Semin Cell Dev Biol. 2009; 20(8): 931-941.

来自本文课题的更多信息——

基金资助: 天津市科技支撑计划重点项目 (08ZCKFSF02100); 博士点基金项目 (20101106110042)。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。