

机械生长因子对骨骼肌卫星细胞增殖及 MGF mRNA 表达的影响

史仍飞¹, 刘子青², 袁海平¹, 王顺利¹, 魏安奎¹, 张平¹

(¹ 上海体育学院 运动科学学院, 上海 200438; ² 上海市杨浦区中心医院 康复医学科, 上海 200090)

【摘要】 目的 骨骼肌卫星细胞是肌源性干细胞, 该细胞的增殖受一系列生长因子的影响。而机械生长因子(mechano growth factor, MGF)是近年来发现的一种对力学信号敏感的自分泌局部生长因子, 可以激活肌卫星细胞的增殖。本研究采用不同浓度的 MGF 干预体外培养的骨骼肌卫星细胞, 探讨促进卫星细胞增殖的适宜浓度。方法 用型胶原酶和胰蛋白酶两步酶消化法分离骨骼肌卫星细胞, 待细胞同步化后, 分别应用不同浓度的 MGF (0 ng/ml、25 ng/ml、50 ng/ml、100 ng/ml 和 150 ng/ml) 干预原代培养的骨骼肌卫星细胞 96 小时, 采用 RT-PCR 技术检测肌卫星细胞 MGF mRNA 的表达, 用 CCK-8 检测卫星细胞的增殖情况, 并检测细胞总蛋白含量。结果 与 0 ng/ml MGF 组相比, 25 ng/ml 和 50 ng/ml 组 OD 值在各时间点均显著性增加, 其中 25 ng/ml 组在 24 h 至 96 h 内 OD 值具有高度显著性 ($P < 0.01$), 50 ng/ml 组在 24 h 至 72 h 内也有高度显著性的增加 ($P < 0.01$); 25 ng/ml 和 50 ng/ml 组 MGF mRNA 的表达量均显著高于对照组 ($P < 0.05$), 其它组的表达与对照组无显著性差异。总蛋白含量也显示, 与 0 ng/ml MGF 组相比, 25 ng/ml 和 50 ng/ml 组均有显著性升高 ($P < 0.05$)。结论 适宜浓度的 MGF 具有促进肌卫星细胞增殖的作用, 其中浓度为 25 ng/ml 和 50 ng/ml 时具有较强的促增殖作用, 但有一定的时间差异。

【关键词】 骨骼肌卫星细胞; 机械生长因子; 细胞原代培养; 细胞增殖

中图分类号: R329.2⁸

文献标识码: A

doi:10.3969/j.issn.1674-4659.2012.01.0018

Extrinsic Mechano Growth Factor Induces Cell Proliferation and MGF mRNA Expression in Rat Skeletal Muscle Satellite Cells in Vitro // SHI Rengfei¹, LIU Ziqing², YUAN Haiping¹, WANG Shunli¹, WEI Ankui¹, ZHANG Ping¹

(¹School of Kinesiology, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China;

²Department of Rehabilitation, Shanghai Central Hospital of Yangpu District, Shanghai 200090, China)

[Abstract] **Objective** Mechano Growth Factor (MGF) is one kind of autocrine growth factor sensitive to mechanical stimulus. It plays a significant role between mechanical stimulation and gene expression by activating satellite cell proliferation. The purpose of the study is to investigate the effects of supplements of MGF on the proliferation of skeletal muscle satellite cells. **Methods** Satellite cells were isolated from SD rat hind limb muscles with two-steps enzyme digestion. After cell synchronization, skeletal muscle satellite cells cultured for 96 hours, and different concentrations of MGF (0 ng/ml, 25 ng/ml, 50 ng/ml, 100 ng/ml and 150 ng/ml) were added to culture medium, respectively. The proliferation of satellite cells and the total protein content were detected. Total RNA was extracted from the cells samples and RT-PCR detection was used to evaluate mRNA MGF relative expression. **Results** Compared with 0 ng/ml MGF, OD values in 25 ng/ml and 50 ng/ml group were significantly increased at each time point ($P < 0.05$), From 24 h to 96 h, OD value in 25 ng/ml group was highly significant ($P < 0.01$), and OD value in 50 ng/ml group was also a highly significant increase at 24 h to 72 h ($P < 0.01$); Compared with the control group, the expression of MGF mRNA in 25 ng/ml and 50 ng/ml groups were significantly increased ($P < 0.05$), but other treatment groups have no significant difference ($P > 0.05$); the total protein content in 25 ng/ml and 50 ng/ml group were significantly increased compared with 0 ng/ml group ($P < 0.05$). **Conclusion** The appropriate concentration of MGF has role in promoting muscle satellite cell proliferation, between 25 ng/ml and 50 ng/ml concentration have a strong effect on the proliferation, but difference in time course.

[Key words] Skeletal Muscle Satellite Cells; Mechano Growth Factor; Cell Primary Culture; Proliferation

1 前言

骨骼肌卫星细胞(skeletal muscle satellite cells)位于肌膜

收稿日期: 2011-10-07 修回日期: 2011-12-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No30800542); 上海市第二期重点学科建设项目资助(S30802)

作者简介: 史仍飞(1976-), 男, 安徽省砀山县人, 副教授, 医学博士, 研究方向: 运动与骨骼肌适应。

(plasmalemma) 和基底膜(basal lamina)之间, 通常处于静息状态, 是具有增殖和分化潜力的生肌干细胞。骨骼肌对运动训练、应力负荷的适应性及损伤后的修复很大程度上依赖于骨骼肌卫星细胞的增殖, 卫星细胞被激活后, 持续增殖、分化, 并最终与损伤的肌纤维融合或在损伤部位生成新的肌纤维^[1-3]。但目前卫星细胞激活的机制并不是很清楚, Allen 等^[4]认为这可能是因为运动训练造成了骨骼肌的损伤, 从而启动了肌细胞的再生过程。骨骼肌损伤后引起炎症反应, 如中性粒细胞核和巨

噬细胞，浸入损伤部位，炎症细胞或损伤的肌组织会释放细胞因子，如 HGF、IGF 等调节肌卫星细胞的增殖和分化^[5, 12]。在众多的研究中，普遍认为 IGF-1 在骨骼肌的肥大过程中发挥重要的调节作用，IGF-1 可以促进离体培养的骨骼肌卫星细胞的增殖和分化，Charge 等^[6] 在在体的动物模型中也证实了以上结论。

Goldspink 等^[7] 研究发现 IGF-1 的一种异构体，并证明其对力学刺激十分敏感，尤其在运动训练和骨骼肌损伤后显著上调，故命名为力生长因子 (Mechano growth factor, MGF)。研究发现 MGF 可以激活卫星细胞、促进细胞增殖。如 Hill 等^[8] 通过在体转染实验发现，采用 MGF 干预的两周内肌肉质量增加 20%，肌纤维直径增加 25%。目前已有实验室进行人工 MGF 的合成^[9]，但对于促进肌卫星细胞增殖的 MGF 剂量和机制仍不是很明确。离体培养的骨骼肌卫星细胞是深入探讨骨骼肌细胞的再生及其机制的重要方法。故此，本研究以体外培养的骨骼肌卫星细胞为研究对象，在其生长过程中采用不同剂量的 MGF 干预，探讨对骨骼肌卫星细胞增殖能力的影响。

2 材料与方法

2.1 试剂与仪器

2.1.1 试剂

DMEM 培养液 (Gibco)；马血清 (Gibco)；胎牛血清 (Gibco)；胰蛋白酶 (碧云天)；型胶原酶 (Sigma)；青霉素 G 钠和链霉素 (上海生工)；MGF (上海吉尔生物)；CCK-8 (日本同仁化学)；结蛋白抗体、ABC 试剂盒 (Santa Cruz)；TRIzol (Invitrogen 公司)；RT-PCR 试剂盒 (Fermentas 公司)；Revert Aid First Strand cDNA kit (Fermentas 公司)。

2.2.2 主要仪器

Leica 倒置显微镜；CO₂ 细胞培养箱 (Thermo 公司)；超净工作台 (江南净化设备公司)；ML-902 恒温磁力搅拌器 (上海科学仪器有限公司)；Anke IDL-50B 低速台式离心机 (上海安亭科学仪器有限公司)；EC 135-90 型电泳仪、凝胶成像系统 GIS-2008、Eppendorf AG RT-PCR 仪。

2.2 实验方法

2.2.1 骨骼肌卫星细胞的原代培养

雄性 1 月龄 SD 大鼠，在无菌条件下取腓肠肌及背部肌肉，去除筋膜、血管、神经及其他结缔组织，冰上充分剪碎。加入 0.1% 的型胶原酶 37 °C 消化 1 h，1 500 RPM 离心 10 min，去上清。再用 0.25% 胰酶 37 °C 消化 30 min；加入适量胎牛血清终止消化，1 500 RPM 离心 10 min，弃上清。加入培养液，分别通过 100 目、200 目及 400 目细胞筛过滤。采用两次差速贴壁法分离大鼠骨骼肌卫星细胞。种植于多聚赖氨酸包被的培养瓶中，37 °C，5% CO₂ 培养箱培养^[17-18, 20]。

2.2.2 实验方案

取第 2 代卫星细胞，调整细胞密度，种植于 96 孔板和 6 孔板中。待细胞贴壁后，用不含牛血清 DMEM 培养液同步化 24 h 后，在 96 孔板中分别加入终末浓度 0 ng/ml、25 ng/ml、50 ng/ml、100 ng/ml 和 150 ng/ml 的 MGF。每 24 h 后检测不同剂量 MGF 对肌卫星细胞的增殖效果，共 4 天。同样取 6 孔

板中的细胞分为 5 组，加入相应浓度的 MGF 培养，实验结束后提取细胞总蛋白待测。

2.2.3 细胞增殖测试

同步化处理后，用 CCK-8 测定 24 h、48 h、72 h 和 96 h 细胞增殖情况。操作方法如下：吸除培养板中的培养液，每孔加入 20 μl CCK-8 试剂，再加入 200 μl PBS，混匀，培养箱孵育 1 h，用 BIORAD 酶标仪 450 nm 测定各孔 OD 值。鉴于 CCK-8 对细胞无损伤，可在原培养板中加入培养液继续培养。

2.2.4 细胞总蛋白提取及测定

实验结束时，吸除六孔板中的培养液，用 PBS 清洗 5 次；每空直接加入细胞裂解液 80 μl (上海康城生物)，其中每 1 ml 裂解液 5 μl 的磷酸酶抑制剂、蛋白酶抑制剂和 PMSF (上海康成生物)，冰上孵育 30 min 后用细胞刮刮除。4 °C，12 000 RPM 离心 10 min 中，取上清。-20 °C 保存待用。用 BCA 法测定总蛋白含量，参照试剂盒操作说明。

2.2.5 RT-PCR

总 RNA 抽提，每孔细胞加 1 ml Trizol 充分吹打；加 200 μl 氯仿，充分混匀，12 000 g 离心 7 min；取上清，至 1.5 ml Eppendorf 管，加 500 μl 异丙醇，混匀，12 000 g 离心 18 min；弃上清，用 75% 乙醇 1 ml 冲洗，高速离心 5 min；弃上清，RNA 沉淀于空气中干燥 2 ~ 3 min；将干燥后的 RNA 溶解于 DEPC 处理水中。

逆转录：所用总 RNA 量 5 μg，反应总体积为 20 μl 体系。

PCR 扩增：PCR 反应体系总体积为 20 μl；PCR 反应条件：预变性：94 °C 4 min，变性：94 °C 30 s，退火：55 °C 45 s，延伸：72 °C 1 min，72 °C 10 min，共 36 个循环。PCR 扩增产物：取 PCR 产物 15 μl，用 1.5% 琼脂糖凝胶进行电泳分析，将扩增产物与 Marker 同时上样，溴化乙锭染色。100 V 电泳 30 min，在凝胶成像系统上观察结果并拍照，应用 Imager™ 2200 分析软件系统进行检测各组标本的 OD 值。对同一标本，将检测基因的检测值除以 GAPDH 的检测值，即为该标本基因的相对表达量。

表 1 大鼠骨骼肌卫星细胞 MGF 和 GAPDH 引物序列

上游序列	下游序列
MGF 5'-GGAGGCTGGAGAACCTGTGCT -3'	5'-TCCTTGGCAGCTCCTTTCTTG-3'
GAPDH 5'-GGCAGCCCAGAACATCATCC -3'	5'-GCCAGCCCCAGCATCAAAG -3'

2.3 统计学处理

统计学处理采用 SPSS 13.0 统计软件，Sigma Plot 进行图像绘制。实验结果采用单因素方差分析 (one-way ANOVA)，以 $P < 0.05$ 为差异有显著性， $P < 0.01$ 为差异有高度显著性。

3 结果

3.1 骨骼肌卫星细胞形态、成活率及纯度鉴定

刚分离出来的卫星细胞分散于培养瓶底部，细胞为圆形，细胞折光性强。24 h 后大部分细胞贴壁，48 h 后贴壁完全，镜下观察，贴壁细胞形状不规则，可见大小突起 (图 1-a)；4 d 后，细胞之间可见突起连接，细胞呈扁梭形，细胞密度增加 (图 1-b)。6 d 后细胞之间相互产生连接，部分细胞分化为肌管 (图 1-d)。

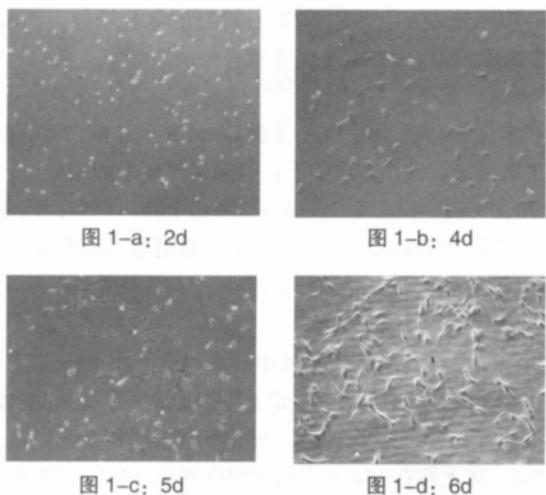


图1 培养不同时间的骨骼肌卫星细胞图片 (10×)

3.2 骨骼肌卫星细胞增殖情况

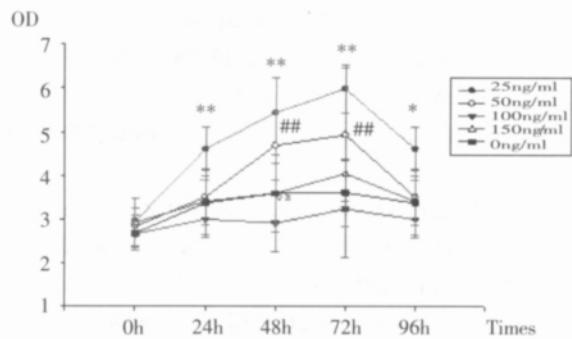


图2 不同浓度的 MGF 在不同时间点对骨骼肌卫星细胞增殖情况的影响

*与50 ng/ml组的0 h相比 $P<0.01$; *与25 ng/ml组的0 h相比 $P<0.05$; **与25 ng/ml组的0 h相比 $P<0.01$

与对照组相比，25 ng/ml组和50 ng/ml组在一定时间范围内促进骨骼肌卫星细胞的增殖，尤其是25 ng/ml组在24 h到96 h内显著促进细胞增殖 ($P<0.01$)。50 ng/ml在24 h到72 h内显著促进细胞增殖 ($P<0.01$)。而100 ng/ml和150 ng/ml组没有显著差异，且结果也显示100 ng/ml组在24 h到96 h有抑制卫星细胞增殖的趋势。

从检测的不同时间来看，与0 h相比，第24 h阶段仅25 ng/ml组细胞增殖有高度显著性差异 ($P<0.01$)；第48 h和72 h阶段，25 ng/ml和50 ng/ml组均与0 h相比具有高度显著性差异 ($P<0.01$)；特别是在72 h时，两组的OD值均达到最高。在96 h时，25 ng/ml组与0 h时相比显著性具有差异 ($P<0.05$)，其他组无差异。

3.3 不同浓度 MGF 刺激骨骼肌卫星细胞的总蛋白含量的影响

骨骼肌卫星细胞BCA测定结果显示，25 ng/ml组总蛋白含量显著高于对照组 ($P<0.01$)；50 ng/ml组与对照组相比差异具有显著性 ($P<0.01$)，与细胞增殖结果相一致。见表2。

表2 各组骨骼肌卫星细胞总蛋白含量

组别	0ng/ml	25ng/ml	50ng/ml	100ng/ml	150ng/ml
蛋白量	12.38±0.29	14.27±0.20**	13.66±0.40*	12.43±0.59	12.52±2.18

注：与0 ng组相比， ** $P<0.01$, * $P<0.05$

3.4 不同浓度 MGF 刺激骨骼肌卫星细胞 MGF mRNA 相对表达量的影响

本实验采用RT-PCR方法，以GADPH为内参，根据表3数据和图3电泳条带结果分析，各刺激组细胞MGF mRNA的相对表达情况。与0 ng/ml的对照组相比，25 ng/ml和50 ng/ml的MGF干预均显著促进了MGF mRNA的表达 ($P<0.05$)，而高浓度的MGF并没有达到更理想的效果，表明MGF在一定浓度范围发挥作用。

表3 不同浓度 MGF 干预对 MGF mRNA 相对表达量

(与GAPDH比值) 的影响

组别	机械生长因子 mRNA 相对表达量
0ng/ml	0.845±0.064
25ng/ml	1.098±0.179 **
50ng/ml	0.973±0.087*
100ng/ml	0.861±0.075
150ng/ml	0.837±0.168

注：*与control相比 $P<0.05$; **与control相比 $P<0.01$

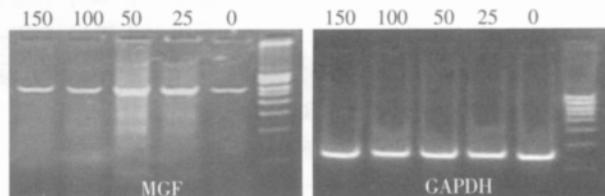


图3 各实验组 MGF mRNA 和 GAPDH mRNA 凝胶电泳图谱

4 分析与讨论

4.1 骨骼肌卫星细胞原代培养

骨骼肌卫星细胞的体外培养及生长特点对于深入探讨骨骼肌细胞的再生及修复具有重要的意义。文献资料表明在不同年龄、不同肌肉类型中骨骼肌卫星细胞含量及增殖能力不同，一般来说骨骼肌卫星细胞的含量与年龄成反比^[19-20]。鉴于此，本实验中所选取4周幼龄的大鼠为取材对象。

在骨骼肌卫星细胞的分离提取方面，酶消化法是常用的分离方法。胶原酶对胶原和肌纤维有很好的分离作用，能够分离单根肌纤维，起到分离肌束作用，但难分离肌束上的卫星细胞。胰蛋白酶则能使骨骼肌的卫星细胞从基底膜与肌膜之间释放出来^[10]。本实验用型胶原酶和胰酶两步消化法分离骨骼肌卫星细胞。分离的骨骼肌卫星细胞中混杂有其他杂质细胞，如红细胞和成纤维细胞等，可通过换液除去。成纤维细胞与骨骼肌卫星细胞在形态上不易区别，但其体外贴壁和增殖速度快，常用差速贴壁法去除成纤维细胞。因卫星细胞一般不易贴壁，采用多聚赖氨酸包被培养瓶方法促进卫星细胞尽快贴壁。

4.2 机械生长因子促卫星细胞增殖的探讨

骨骼肌卫星细胞的激活及增长过程受多种因素的调节，

IGF-1 已被证实 在骨骼肌的肥大过程中发挥重要的调节作用，可以促进离体培养的骨骼肌卫星细胞的增殖和分化。Goldspink 等^[7] 研究发现肌肉受到刺激后 IGF-1 首先剪切表达为 MGF，MGF 是唯一在运动训练和肌肉损伤后显著上调的因子。研究也发现，MGF 可以激活卫星细胞、促进成肌细胞增殖，维持局部骨骼肌组织的质量和促进损伤组织的修复^[11-12]。

目前关于外源性生长因子对骨骼肌卫星细胞增殖的实验研究并不多，且主要是 IGF-1 对细胞增殖的研究，如李刚等^[13] 在用 IGF-1 对大鼠骨骼肌卫星细胞的研究中发现，50 ng/ml 和 100 ng/ml 两个浓度对肌卫星细胞的增殖效果明显。而有关 MGF 的促增殖研究方面，现有的研究认为 20 ~ 50 ng/ml 的 MGF 对卫星细胞的增殖作用最明显^[13, 15]。鉴于此，本研究分别采用含 MGF 浓度为 25 ng/ml、50 ng/ml、100 ng/ml 和 150 ng/ml 培养液干预肌卫星细胞。结果发现 25 ng/ml 和 50 ng/ml 两个浓度的 MGF 在一定时间范围内能促进骨骼肌卫星细胞的增殖，尤其是 25 ng/ml 在 24 h 到 96 h 内能显著促进细胞增殖 ($P < 0.01$)，且在 72 h 时 OD 值达到峰值。50 ng/ml 在 24 h 到 72 h 内能显著促进细胞增殖 ($P < 0.01$)，同样也是在 72 h 时 OD 值达到峰值。而 100 ng/ml 和 150 ng/ml 对卫星细胞增殖效果没有明显的促进作用。同时，在各组细胞总蛋白含量测定中发现，25 ng/ml 组总蛋白含量显著高于对照组 ($P < 0.01$)；50 ng/ml 组与对照组相比差异具有显著性 ($P < 0.01$)。与细胞增殖结果相一致。为进一步探讨 MGF 的作用，我们也检测不同刺激组肌卫星细胞 MGF mRNA 的表达，也发现在 25 和 50 ng/ml 组的诱导，促进了卫星细胞 MGF 的表达，后者是促进细胞增殖的调控因子，尤其是在运动训练和肌肉损伤后显著上调。

在外源性 MGF 的研究中，张兵兵等^[14] 用 10、20 和 50 ng/ml 的 des (1-3) MGF 和 des (1-3) IGF-I 对 MC3T3-E1 细胞增殖情况的研究中发现，两者均能显著促进 MC3T3-E1 细胞的增殖 ($P < 0.01$)，但 3 种浓度下前者的增殖作用是后者的 1.6、1.7 和 1.3 倍。100 ng/ml 的浓度时，des (1-3) MGF 和 des (1-3) IGF-I 对细胞的增殖作用减弱。这与本研究的结果相一致，出现这种现象的原因可能是 MGF 存在一个促细胞增殖的阈值。另外 Tang 等^[15] 通过对成骨细胞施加应力刺激时发现骨组织的 MGF 的表达增加，在她们随后的研究中^[16] 用 0 ng/mL、10 ng/mL、25 ng/mL 和 100 ng/mL 四个不同剂量的外源性 MGF 干预成骨细胞，发现 4 个浓度的 MGF 都能在一定时间范围内促进成骨细胞增殖，其中 10 ng/mL 的 MGF 在 12 h 到 36 h 内显著促进成骨细胞增殖；50 ng/mL 的 MGF 在 12 h 到 24 h 内对成骨细胞增殖有显著促进的促进作用。

但这些研究也留下一些尚未解决的问题，如低浓度的 MGF 是否都能促进骨骼肌卫星细胞增殖？是否存在一个最适浓度范围？这些问题都有待于进一步的研究。若要进一步探讨 MGF 促增殖的浓度范围和效应机制，还需要引入相应的信号通路。给细胞内的化学信号的途径还不是很清楚，目前一些研究认为运动或损伤产生的机械信号可能与 IGF/PI3K/Akt 的通路相吻合，MGF 是否通过 PI3K/Akt 信号通路还有待于深入的研究。

本实验主要采用 胶原酶和胰蛋白酶两步消化法成功地释放骨骼肌肌卫星细胞。MGF 可以激活处于静息状态的骨骼肌

卫星细胞，完成机械信号向化学信号的转换，适宜浓度的 MGF 具有促进肌卫星细胞增殖的作用，其中浓度为 25 ng 和 50 ng/ml 时具有较强的促增殖作用，但有一定的时间差异。这为研究 MGF 在临床肌肉萎缩治疗的应用及对衰老的预防的作用提供了理论支持。

参考文献

- [1] Dhawan J, Rando TA. Stem cells in postnatal myogenesis: molecular mechanisms of satellite cell quiescence, activation and replenishment [J]. *Trends Cell Biol*, 2005, 15 (12) : 666-673.
- [2] Srikuea R, Pholpramool C, Kitayant Y, et al. Satellite cell activity in muscle regeneration after contusion in rats [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2010, 37 (11) : 1078-1086.
- [3] Wagers AJ, Conboy IM. Cellular and molecular signatures of muscle regeneration: current concepts and controversies in adult myogenesis [J]. *Cell*, 2005, 122 (5) : 659-667.
- [4] Allen DG, Whitehead NP, Yeung EW. Mechanisms of stretch-induced muscle damage in normal and dystrophic muscle: role of ionic changes [J]. *J Physiol*, 2005, 567 (Pt 3) : 723-35.
- [5] Fielding RA, Manfredi TJ, Ding W, et al. Acute phase response in exercise. III. Neutrophil and IL-1 beta accumulation in skeletal muscle [J]. *Am J Physiol*, 1993, 265 (1 Pt 2) : R166-R172.
- [6] Charge SB, Rudnicki MA. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration [J]. *Physiol Rev*, 2004, 84 (1) : 209-238.
- [7] Goldspink G, Yang S Y, Skarli M, et al. Local Growth Regulation is Associated with an Isoform of IGF-I that is Expressed in Normal Muscles but not in Dystrophic Muscles [J]. *J Physiol*, 1996, 495: 162-168.
- [8] Hill M, Wernig A, Goldspink G. Muscle satellite (stem) cell activation during local tissue injury and repair [J]. *J Anat*, 2003, 203 (1) : 89-99.
- [9] 陈晔. 力生长因子基因的克隆、表达及产物的纯化 [D]. 重庆: 重庆大学, 2006.
- [10] Bischoff R, Heintz C. Enhancement of skeletal muscle regeneration [J]. *Dev Dyn*, 1994, 201 (1) : 41-54.
- [11] Goldspink G, Harridge S D R. Growth factors and muscle ageing [J]. *Exp Gerontol*, 2004, 39 (10) : 1433-1438.
- [12] Matheny RW Jr, Nindl BC, Adamo ML. Mechano-growth factor: a putative product of IGF-I gene expression involved in tissue repair and regeneration [J]. *Endocrinology*, 2010, 151 (3) : 865-75.
- [13] 李刚, 刘强. 肌卫星细胞体外培养及其对胰岛素样生长因子 1 刺激的反应 [J]. 中华创伤杂志, 2006, 22 (7) : 531-534.
- [14] 张兵兵, 姜鹏, 鲜成玉, 等. 力生长因子在大肠杆菌中的表达及活性分析 [J]. 生物工程学报 2008, 24 (7) : 1180-1185.
- [15] Tang LL, Xian CY, Wang YL. The MGF expression of osteoblasts in response to mechanical overload [J]. *Arch Oral Biol*, 2006, 51 (12) : 1080-1085.
- [16] 邱敏, 李大军, 唐丽灵. 力生长因子对成骨细胞增殖和分化行为的影响 [C]. 第九届全国生物力学学术会议论文汇编, 2009.
- [17] 司徒镇强. 细胞培养 [M]. 西安: 世界图书出版公司, 2004: 71-78.
- [18] 吕捷, 赵春礼, 鲁强, 等. 成年动物骨骼肌细胞原代培养及转染外源基因的初步研究 [J]. 解剖学报, 2000, 31 (1) : 87-89.
- [19] 陈晓萍, 范明. 肌卫星细胞研究进展 [J]. 生理科学进展, 2003, 34 (2) : 136-138.
- [20] Burton NM, Vierck JL, Krabbenhoft L, et al. Methods for animal satellite cell culture under a variety of conditions [J]. *Methods Cell Sci*, 2000, 22: 51-61.

(责任编辑: 常海庆)