

2012 年的调查研究显示,我国 15 岁以上人群高血压发生率为 23.33%^[1]。本次研究发现有 26.5% 的调查对象患有高血压,可能是上海市城镇居民在外就餐比例高,膳食结构不合理,食盐摄入量超标等原因引起。另外所调查人群中 ≥ 50 周岁的中老年人比例高达 57.0%,年龄增大是高血压发病的风险因素,因此结果偏高。高血压可引起心脑血管疾病等严重后果,是一种威胁人类健康的重要疾病。西班牙开展的一项对高血压人群的多中心调查显示,68.5% 的高血压患者伴有糖代谢异常,47.9% 的患者合并 MS^[8]。

诸多研究显示,高血压与肥胖密切相关。Framingham 等^[9] 的研究发现,高 BMI 组较低 BMI 组人群的血压明显升高,肥胖导致 78% 的男性和 65% 的女性患高血压。调查中发现不同 BMI 人群的高血压发生率不同,超重人群有 31.5% 患有高血压,肥胖人群有 54.3% 患有高血压,随 BMI 增加高血压发生率增加,可见高血压发病与 BMI 密切相关。高血压的多因素回归分析结果显示,高血压与 BMI 呈正相关,与有关研究一致^[10,11]。BMI 每增加一个标准差,高血压的发病风险增加 1.657 倍 (95% CI: 1.161 ~ 2.463),可见 BMI 与高血压独立相关,这与日本的相关研究结果一致^[12]。因此控制 BMI 在标准范围内对防治高血压意义重大。

本调查是一个小样本的调查研究,并且调查对象以中老年人群居多,结果具有局限性,不能代表整个人群的高血压发病,但对于观察肥胖与高血压的关系仍有较大参考价值。

参考文献

- 1 白洁,唐智柳等. 2000-2010 年我国高血压患病率系统综述[J]. 上海预防医学,2012,11:604-608

- 2 刘建峰,刘湘琳,吕淑荣,等. 江苏省居民血压变化趋势及与 BMI 和腰围关系[J]. 中国公共卫生,2013,29(6):792-795
- 3 第五次中国居民营养与健康状况监测报告[R]. 中国营养学会第十一次全国营养科学大会暨国际 DRIs 研讨会,杭州;2013
- 4 World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2010[R]. Geneva:WHO Library Cataloguing-in-publication Data,2010:2-23
- 5 Fezeu L, Balkau B, Sobngwi E, et al. Waist circumference and obesity-related abnormalities in French and Cameroonian adults: the role of urbanization and ethnicity[J]. In J Obes,2010,34(3):446-453
- 6 国际生命科学学会中国办事处中国肥胖问题工作组联合数据汇总分析写作组. 中国成人体质指数分类的推荐意见简介[J]. 中华预防医学杂志,2001,35(5):349-350
- 7 Dalamaga M. Nicotinamide phosphoribosyl-transferase/visfatin: a missing link between overweight/obesity and postmenopausal breast cancer? Potential preventive and therapeutic perspectives and challenges[J]. Med Hypotheses,2012,79(5):617-621
- 8 Abdullah A, Peeters A, Courten MD, et al. The magnitude of association between over weight and obesity and the risk of diabetes: a meta-analysis of prospective cohort studies[J]. Diab Res Clin Pr,2010,89(3):310-319
- 9 Janghorbani M, Amini M, Gouya MM, et al. Nationwide survey of prevalence and risk factors of prehypertension and hypertension in Iranian adults[J]. J Hypertens,2008,26(3):419
- 10 Ardeshir LF, Kalantar Motamedi SM. The relation between serum vitamin D levels and blood pressure: a Population-based Study[J]. Acta Med Iran. 2014, 52(4):290-297
- 11 薛森海,赵长海. 体重指数与高血压及心电图异常的关系[J]. 现代预防医学,2012,39(5):1168-1170
- 12 Oda E, Kawai R. Body mass index is more strongly associated with hypertension than waist circumference in apparently healthy Japanese men and women[J]. Acta Diabetol,2010,7(4):309-313

(收稿日期:2014-05-21)

(修回日期:2014-06-10)

糖尿病患者脂肪干细胞(ADSCs)的分离、培养及鉴定研究

朱 琳 刘志飞 张 星 王晓军

摘 要 目的 建立糖尿病患者 ADSCs 的分离、培养流程,并检测其生物学标志物与健康人来源 ADSCs 的差异。**方法** 取健康人和糖尿病患者脂肪组织,按健康人 ADSCs 的分离培养流程进行两组细胞的分离、培养;取 P3 代 ADSCs,分别用流式细胞仪

基金项目:北京协和医院院内基金资助项目

作者单位:100032 中国医学科学院北京协和医院整形外科(朱琳、刘志飞、王晓军);510060 广州,中山大学附属肿瘤防治中心头颈外科(张星)

通讯作者:王晓军,电子信箱:xjwang100@hotmail.com

检测两组细胞表面标志物 CD29、CD44、CD105 的表达。**结果** 糖尿病患者脂肪组织采取和正常 ADSCs 类似的分离培养流程可以获得呈典型形态的 ADSCs, 流式细胞仪检测实验组 and 对照组 P3 代 ADSCs CD29、CD44、CD105 均呈阳性表达。**结论** 成功建立了糖尿病患者来源的 ADSCs 分离和培养流程, 初步证实其具有正常人来源 ADSCs 的生物学标志物。

关键词 糖尿病; 脂肪干细胞

[中图分类号] R3 [文献标识码] A

Culture and Identification of DM - derived Adipose Stem Cells. Zhu Lin, Liu Zhifei, Zhang Xing, et al. Plastic Surgery Department, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Science, Beijing 100032, China

Abstract Objective To found the process of culturing and identifying DM - derived ADSCs, and comparing with ADSCs from healthy person, providing theory evidence for autologous DM - derived ADSCs transplantation. **Methods** Adipose tissue were taken from healthy person and DM patient, and isolating and culturing two group cells by the process of normal ADSCs. P3 generation ADSCs were taken, and the cell markers of two group cells were identified, including CD29, CD44, CD105, by using flow cytometer. **Results** The typical ADSCs could be achieved from DM's adipose tissue by the similar method of normal ADSCs isolation and culture; flow cytometer identified CD29(+), CD44(+), CD105(+) on P3 generation cells coming from both two groups. **Conclusion** The typical ADSCs could be achieved from DM's adipose tissue by the similar method of normal ADSCs isolation and culture. Flow cytometer identified CD29(+), CD44(+), CD105(+) on P3 generation cells coming from both two groups.

Key words Diabetes mellitus; Adipose - derived stem cells

糖尿病是长期威胁人类健康的全球性难题, 现有治疗方法均不甚理想。目前认为, 糖尿病慢性并发症中血管病变是主要和始发的致病因素, 而血管病变的关键靶组织为内皮细胞^[1]。通过移植内皮细胞或者具有诱导分化为内皮细胞能力的干细胞便成为一种极具前景的治疗方法。最新研究发现, ADSCs 是血管组织工程优秀的种子细胞, 可被诱导分化为血管内皮细胞。目前, 关于糖尿病患者 ADSCs 的研究较少, 糖尿病患者 ADSCs 是否具有和正常人 ADSCs 类似的生物学特性, 是实现糖尿病患者 ADSCs 能否自体移植治疗的关键问题。本研究目的在于建立糖尿病患者来源 ADSCs 的分离、培养流程, 并比较其与正常人 ADSCs 的差异, 为实现糖尿病患者 ADSCs 自体移植治疗提供理论依据。

资料与方法

1. 材料: (1) 实验试剂: 高糖 DMEM 培养基、胎牛血清 (美国 GIBCO 公司); I 型胶原酶、胰酶 (美国 Sigma 公司); CD29、CD44、CD105 荧光标记抗体 (美国 BD Bioscience 公司)。(2) 脂肪组织: 糖尿病患者脂肪组织来源于北京协和医院基本外科合并糖尿病的手术患者的腹壁脂肪。健康人脂肪组织来源于北京协和医院整形外科吸脂手术患者。

2. 实验方法: (1) 糖尿病患者 ADSCs 提取培养: ①取糖尿病患者腹壁脂肪组织 30ml, 充分剔除血管、结缔组织, 充分剪碎为大小约 1mm × 1mm × 1mm 小块。将脂肪悬液转入离心管内, 共 3 管, 每管加入 PBS 洗涤, 650r/min 离心, 离心后吸出下层洗涤液。3 管分为以下 3 组: A 组 (2 倍体积 0.075% I 型胶原酶)、B 组 (2 倍体积 0.10% I 型胶原酶)、C 组 (2 倍体积 0.20% I 型胶原酶)。根据上述 3 管终体积按 1:200 比例加入

双抗, 封口膜封口后置入 37℃ 恒温水浴箱振荡消化 60min 并过滤备用; ②3 个不同消化浓度的细胞悬液以 220r/min 离心, 小心吸去上层油脂和上清液, 每管沉淀加入 PBS 10ml 吹洗后 1100r/min 离心, 移出上层液体每管沉淀加入 DMEM - HG + 10% FBS 5ml 吹匀细胞, 种植于 T - 25 培养瓶内。于 48h 首次换液, 之后每 72h 换液 1 次, 达 80% 细胞融合时传代。(2) 健康人 ADSCs 提取培养: ①取健康人吸脂所得脂肪组织 30ml, 650r/min 离心后, 吸出下层吸脂麻醉药, PBS 洗涤后再次离心, 吸出下层洗涤液后备用。根据脂肪组织量加入 0.3% 的胶原酶适量至胶原酶浓度 0.075%、0.2% BSA 2ml, 双抗按 1:200 比例加入, 封口膜封口后置入 37℃ 恒温水浴箱震荡消化 60min; ②其余步骤同糖尿病患者 ADSCs 提取培养步骤。(3) 流式细胞术鉴定: P3 代 ADSCs 以 2.5g/L 胰酶消化, 以 2×10^5 细胞量接种, 分别加入 CD29、CD44、CD105 抗体, 进行流式细胞仪检测。

结 果

1. 糖尿病患者 ADSCs 的分离和培养: 3 管不同浓度的细胞悬液种植于 3 个 T - 25 培养瓶中, 倒置显微镜下观察结果如下: (1) A 组: 消化结束后管内组织分 3 层, 表层油滴, 中层混合了大块未消化组织的悬液, 下层为微混的消化液。接种于培养瓶后即时镜下观察可见大量圆形细胞, 由于未使用红细胞裂解液, 培养液中混杂的较小圆形红细胞比较多, 同时还有部分未消化组织和油滴。12h 可见细胞逐渐开始贴壁变形, 24 ~ 48h 后细胞基本变形为短梭形或者卵圆形。9 天后细胞平铺超过瓶底 80% 以上, 常规消化传代, 生长特性与正常人 ADSCs 基本一致 (图 1)。(2) B 组: 消化结果与 A 管基本一致, 仍存在未消化组织,

但细胞数较多,原代培养经过 7 天即可传代(图 2)。(3)C 组:消化结束后管内组织分 3 层,表层油滴,中层为大量黄色絮状组织,未消化颗粒基本消失,下层为消化液。接种后观察培养瓶内基本没有细胞,主要是未完全清洗干净的油滴,24h 后亦未见有贴壁细胞,未进行换液传代(图 3)。

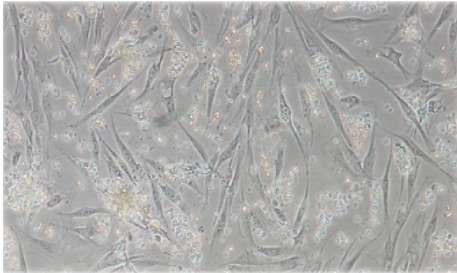


图 1 A 组培养 2 天后结果

细胞形态基本一致,细胞数较多,可见相当数量的红细胞

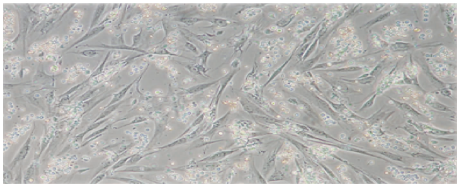


图 2 B 组培养 2 天后结果

细胞形态基本一致,细胞数较多,可见相当数量的红细胞

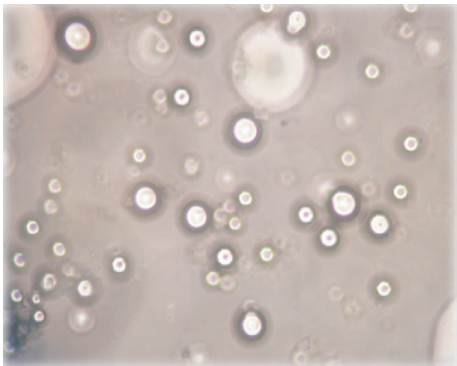


图 3 C 组接种后即时观察结果

基本无细胞,主要是油滴

2. 健康人 ADSCs 的鉴定:详见表 1。

表面标志物	P3 代 ADSCs		平均值
	流式检测管 1	流式检测管 2	
CD29 - FITC	76.2	71.9	74.1
CD44 - FITC	82.6	74.5	78.5
CD105 - FITC	52.3	55.8	54.1

3. 糖尿病患者 ADSCs 的鉴定:流式细胞仪检测结果见表 2。糖尿病患者 ADSCs 鉴定可见 CD29、CD44、CD105 表达阳性,表明其具有与正常人 ADSCs 类似的生物学性质。

表 2 流式细胞仪检测糖尿病患者 ADSCs 表面标志物(%)

表面标志物	P3 代 ADSCs
CD29 - FITC	75.2
CD44 - FITC	71.6
CD105 - FITC	50.7

讨 论

糖尿病并发症是一项全球性的治疗难题,研究者们一直致力于寻找一种安全、有效、经济的治疗方法。干细胞移植被认为是新的希望。一种合适的干细胞至少应该满足以下几个标准:①来源广泛,大量存在;②获取过程应无创或微创;③能够以可调控和可复制的方式向多个方向诱导分化;④能够安全有效的进行自体同源或同种异源移植;⑤能够以当前组织工程学流程大量制造^[2]。ADSCs 具有大量的优势满足上述标准:脂肪组织在人体内大量存在,脂肪抽吸术创伤很小,不易造成供体部位病损;1g 脂肪组织可以分离得到 5×10^3 个细胞,是同质量骨髓组织所得间充质干细胞的 500 倍^[3];在分化性能上,ADSCs 表现尤为出色,具有向大多数中胚层组织分化的能力,包括成脂、成骨、成软骨、心肌、骨骼肌、平滑肌等,而对于非中胚层组织,可分化为内皮细胞、肝细胞、上皮细胞、神经元细胞及胰腺细胞^[4]。

目前普遍认为,ADSCs 是来源于脂肪组织的间充质干细胞,因此其分离方法沿用了间充质干细胞的分离流程:即流式细胞分选法、磁珠分离法、密度梯度离心法和贴壁筛选法。本实验选择了反复贴壁筛选法,并采用了 Hiroshi Mizuno 方法,即将脂肪组织洗涤以去除明显的红细胞、麻醉液、结缔组织,然后加入 0.075% 的胶原酶,在 37℃ 消化 0.5 ~ 1.0h^[5]。实验中应注意随时观察离心管中组织悬液的状态,如果分为明显 3 层,则说明消化已基本完成,应结束消化,如果观察到大量絮状物质,多为消化过度细胞碎裂产生,此时应适当缩短消化时间或者降低消化酶的浓度。消化结束后应使用等量的细胞培养基(DMEM + 10% FBS)中止消化。在本实验中并未使用培养基中止,主要出于以下两点考虑:①大量多次培养需要的培养基较多,实验经费有限;②胶原酶主要作用部位是细胞外基质,对于细胞本身的消化作用较胰酶轻,

如果消化时间把握较好,消化结束后可以迅速过滤离心,然后加入 PBS 洗涤,那么不加培养基中止消化对最终细胞种植基本没有影响。

相比于正常人 ADSCs,糖尿病患者 ADSCs 的差异主要表现在以下两个方面:(1)供体年龄:一般除了 1 型糖尿病以外,大多数 2 型糖尿病患者年龄偏大,而年龄对于 ADSCs 的影响目前尚未达成完全共识。一般认为,供者的年龄越小,细胞的黏附增殖活力越好^[6,7]。Aust 等^[8]研究后认为,ADSCs 的衰老与供体的体重指数呈负相关,而与年龄无关。Harris 等^[9]将来自不同年龄的 ADSCs 进行 CD31 的负分选,得到的细胞经诱导分化后检测 CD31 的表达,最终的结果是认为 ADSCs 表现出对年龄的独立性,后者并不影响 ADSCs 向内皮细胞的分化。(2)获取脂肪的方式和部位:正常人的脂肪多数通过吸脂术获取,糖尿病患者脂肪则多数通过手术直接取得。吸脂术本身并不会对 ADSCs 造成负面影响,但吸脂针的孔径会影响脂肪颗粒的大小,进而影响 ADSCs 分离的难易程度,而手术直接获取脂肪组织虽然对 ADSCs 活性不会有影响,但明显增加了分离的难度^[10]。对于脂肪来源部位,Schipper 等^[6]研究认为,与腹部、大腿和乳房来源的脂肪组织相比,同等体积的人前臂脂肪组织中含有更多的 ADSCs。

在本实验糖尿病患者 ADSCs 的分离中,考虑了以下几个方面:首先糖尿病患者通过手术直接获取的脂肪颗粒明显较粗,采用正常人一样的消化程序是否能获得相当数量的细胞?其次对于糖尿病本身潜在的对 ADSCs 活性的影响,如何优化实验流程?在实际实验中,首先将获取的脂肪组织尽可能剪碎,这个步骤在这种非吸脂术获取的脂肪组织中很重要,因为足够细小的脂肪颗粒意味着更多与消化液接触的表面积,也就意味着更好的消化效果和更短的消化时间。其次设定了 3 个梯度的消化酶浓度,其中 0.075% 是正常人 ADSCs 的分离浓度,而 0.10% 则是考虑到上述消化难度的增加而设计,最后 0.20% 其实是一个试验性的浓度,观察在高浓度的消化酶作用下脂肪组织的消化表现,当然也不排除由于消化难度增加使之成为最合适的消化酶浓度的可能。最后的优化为放弃使用红细胞裂解液,考虑如下:①在正常人的 ADSCs 培养中,使用红细胞裂解液仍然会残留红细胞,而这些红细胞通过数次换液传代是可以去除的,对细胞生长影响不大;②红细胞裂解液中普遍含 EDTA,对红细胞裂解的同时该成分也会对其他细胞

产生损伤;③红细胞裂解的时间较长,对细胞活性也会产生影响。

从结果来看,0.1% 的消化酶浓度获得了最多的贴壁细胞,传代也更快,适用于正常人 ADSCs 培养、传代也适用于糖尿病患者 ADSCs,而更高的消化酶浓度(0.2%)会导致细胞破坏。最终总结得出以下结论:①采用和正常人 ADSCs 类似的分离方法,可以分离得到来自糖尿病患者自身的 ADSCs;②分离中尽可能剪碎组织很重要;③原代培养中放弃使用红细胞裂解液不会对 ADSCs 的培养产生不利影响。

在本实验相同的培养条件下,并未发现糖尿病患者 ADSCs 基质细胞相关标志物与正常人相比存在差异。由脂肪组织初始分离的贴壁细胞其实是一个混合的细胞系,其中包括了多种细胞的集落生成单位,如成纤维细胞、成脂细胞、造血干细胞、成骨细胞等,这找混合的细胞系基质细胞相关标志物的表达率并不高。而经过数代的贴壁培养,其他细胞逐渐凋亡,而间充质干细胞依靠强大的复制更新能力逐渐占据了主要地位,此时形态均一的贴壁细胞才成为 ADSCs,而基质细胞相关标志物的表达亦逐渐上升。所以,对于 ADSCs 进行基质细胞相关标志物的检测,其实是从另一方面印证了 ADSCs 的复制更新能力。综合本实验得出结论,糖尿病患者自身 ADSCs 基质细胞相关标志物与正常人相比没有差异。

在 ADSCs 的培养中,实际上影响最终培养结果的因素较多,而本实验中限于标本来源有限(首先必须是开腹手术的糖尿病患者,其次每位患者能够取的脂肪远较吸脂术的少,约 5~10 毫升/人),很多应该研究的糖尿病患者 ADSCs 培养条件都没能进行,包括不同培养基的选择,不同的接种密度,不同的胎牛血清浓度。下一步应在充足的标本来源情况下,充分设计实验分析上述各个条件,进一步建立糖尿病患者 ADSCs 最佳的分离和培养流程,并对其生物学特性展开进一步的研究。

参考文献

- Setacci C, Sirignano P, Galzerano G, *et al.* Endovascular first as "preliminary approach" for critical limb ischemia and diabetic foot[J]. J Cardiovasc Surg, 2013, 54(6): 679-684
- Buehrer BM, Cheatham B. Isolation and characterization of human adipose-derived stem cells for use in tissue engineering[J]. Methods Mol Biol, 2013, 1001: 1-11
- Qureshi AT, Chen C, Shah F, *et al.* Human adipose-derived stromal/stem cell isolation, culture, and osteogenic differentiation[J]. Methods Enzymol, 2014, 538: 67-88
- Huang SJ, Fu RH, Shyu WC, *et al.* Adipose-derived stem cells: i-

- solation, characterization, and differentiation potential [J]. *Cell Transplant*, 2013, 22(4): 701 – 709
- 5 Mizuno H. Adipose – derived stem cells for tissue repair and regeneration: ten years of research and a literature review [J]. *J Nippon Med Sch*, 2009, 76(2): 56 – 66
 - 6 Scruggs BA, Semon JA, Zhang X, *et al.* Age of the donor reduces the ability of human adipose – derived stem cells to alleviate symptoms in the experimental autoimmune encephalomyelitis mouse model [J]. *Stem Cells Transl Me*, 2013, 2(10): 797 – 807
 - 7 Choudhery MS, Badowski M, Muise A, *et al.* Donor age negatively impacts adipose tissue – derived mesenchymal stem cell expansion and differentiation [J]. *J Transl Med*, 2014, 12(1): 8
 - 8 Aust L, Devlin B, Foster SJ, *et al.* Yield of human adipose – derived adult stem cells from liposuction aspirates [J]. *Cytotherapy*, 2004, 6(1): 7 – 14
 - 9 Harris LJ, Zhang P, Abdollahi H, *et al.* Availability of adipose – derived stem cells in patients undergoing vascular surgical procedures [J]. *J Surg Res*, 2010, 163(2): 105 – 112
 - 10 Harasymiak – Krzyzanowska I, Niedojadło A, *et al.* Adipose tissue – derived stem cells show considerable promise for regenerative medicine applications [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2013, 18(4): 479 – 493
- (收稿日期: 2014 – 02 – 20)
(修回日期: 2014 – 03 – 05)

两种内固定方法在老年人股骨粗隆间骨折的应用研究

郭文涛 王 翀 艾力·热黑 胥伯勇

摘 要 目的 探讨比较锁定钢板(locking compression plate, LCP)和股骨近端防旋髓内钉(proximal femoral nail anti – rotation, PFNA)治疗老年人股骨粗隆间骨折的临床疗效。**方法** 回顾性分析笔者医院骨科中心 2008 年 2 月 ~ 2011 年 11 月收治的老年人股骨粗隆间骨折 83 例,并根据不同的手术方法将其分为两组:PFNA 内固定组 42 例, LCP 内固定组 41 例。采用 Harris 功能评分、手术时间、术中出血量、住院天数、骨折愈合时间及相关并发症的发生率等进行统计学分析,以评价两种术式的疗效。**结果** 随访 17 ~ 33 个月(平均 23 个月)后根据 Harris 评分标准,PFNA 组较 LCP 组无明显差异,差异无统计学意义($P > 0.05$);但 PFNA 组较 LCP 组术中出血量少、手术时间少,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** LCP 和 PFNA 均是治疗老年人股骨粗隆间骨折的有效方法,相对而言 PFNA 更加适合老年人群的股骨粗隆间骨折。

关键词 锁定钢板 股骨近端防旋髓内钉 股骨粗隆间骨折

[中图分类号] R683 [文献标识码] A

Application of Two Internal Fixation Methods in the Treatment of Senile Intertrochanteric Fractures. Guo Wentao, Wang Chong, Aili · Rehei, *et al.* The First Teaching Hospital of Xinjiang Medical University, Xinjiang 830054, China

Abstract Objective To explore the clinical curative effects of LCP and PFNA in senile intertrochanteric fractures. **Methods** Retrospective analysing the 83 patients of senile intertrochanteric fractures from Feb 2008 to Nov 2011 in the orthopedic center of our hospital, they were divided into two groups: LCP group ($n = 41$) and PFNA group ($n = 42$). Statistically analysing Harris function scores, operation time, intraoperative blood loss, hospital stays, fracture healing time and incidence of complications after operation, in order to evaluating the effect of two methods. **Results** After followed up for 17 – 33 months (average of 23 months). LCP group compared with PFNA group, according to Harris scoring criteria, there was no statistically significant difference ($P > 0.05$). But compared with LCP group, the PFNA group had less intraoperative blood loss and operative time, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** LCP and PFNA are effective methods to treat senile intertrochanteric fractures. Compared with LCP, PFNA is an ideal method of senile intertrochanteric fractures.

Key words LCP; PFNA; Intertrochanteric fractures

随着我国社会人口老龄化的不断加剧,老年人创伤性骨折的发生率也不断增加,而股骨粗隆间骨折是

老年人股骨骨折中最常见的一种骨折类型。往往这些患者有着共同的特点:高龄,一般情况相对较差,多伴有许多基础性疾病,而骨折后其基础性疾病在长期卧床后会有所加重,从而加大其骨折治疗的难度,而且老年人的骨质疏松较严重,易导致内固定固定不牢靠^[1]。目前治疗股骨粗隆间骨折方法较多,且存在

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81160218)

作者单位:830054 乌鲁木齐,新疆医科大学第一附属医院骨科

通讯作者:胥伯勇,电子信箱:lizhouju357@126.com