

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2020.04.11

纤维蛋白胶复合物促进犬骨折愈合的临床学观察

赖 鑫, 陈智华*, 范希萍, 常丽桦, 韩 鹏, 梁 倩, 史冬雪, 年聚盆, 亢 心

(甘肃农业大学动物医学院, 兰州 730070)

[收稿日期] 2019-11-07 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2020) 04-0063-07 [中图分类号] S859.79

[摘 要] 为了探索纤维蛋白胶(FG)联合人骨形态发生蛋白(rhBMP-2)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)和妥布霉素的复合物对犬骨折愈合的影响,建立了犬胫骨骨折模型,将FG复合物应用于实验组和空白对照组的胫骨骨折处,在术后2、4、8、12、16周,测定骨折处周围软组织充血水肿消除时间、利用X射线影像学评价骨折愈合程度、测定骨折愈合部位的骨密度(BMD)及骨密度比率、骨痂体积,测定胫骨生物力学强度并进行统计和分析。实验组和对照组比较:术部红、肿、热消失时间显著缩短,术后各时间点的X射线影像学评分更高,术后各时间点骨痂更大,术后16周术部骨骼能承受的最大载荷和最大位移显著增大。结果表明FG联合rhBMP-2、bFGF与妥布霉素应用于骨折部位,可促进骨折愈合过程中软组织的生成,缩短骨折愈合的时间,提高骨生物力学强度。

[关键词] rhBMP-2; bFGF; 妥布霉素; 骨折

Clinical Observation on Promotion of Dog Fracture Healing by Fibrin Glue Complex

LAI Xin, CHEN Zhi-hua*, FAN Xi-ping, CHANG Li-hua, HAN Peng,

LIANG Qian, SHI Dong-xue, NIAN Ju-peng, KANG Xin

(College of Veterinary Medicine, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Corresponding author: CHEN Zhi-hua, E-mail: 13609320234@126.com

Abstract: To explore the influence of fibrin glue (FG) combined human bone morphogenetic protein (rhBMP-2), basic fibroblast growth factor and tobramycin complex on the healing of dog fracture. Establishing dog tibia fracture model, applying the FG complex to the place of tibia fracture in the experimental and blank control group, in the 2nd, 4th, 12th and 16th week after the surgery, measuring the time for elimination of congestion and edema in the soft tissue around the fracture, evaluating the fracture healing extent by using X ray imaging, measuring the bone mineral density (BMD) and bone mineral density rate, callus volume, measuring tibia biomechanical properties and make statistics and analysis. Comparison between the experimental group and

基金项目: 甘肃省农牧厅生物技术专项(GNSW-2015-13)

作者简介: 赖 鑫, 主要从事小动物疾病诊疗技术研究。

通讯作者: 陈智华。E-mail: 13609320234@126.com

contrast group: The time for disappearing of red, swollen, heat at the place of the surgery is significantly reduced, the scoring of X ray imaging is higher at each time point after the surgery, and the callus at each time point after the surgery is larger, in the 16th week after the surgery, the maximum load and displacement for the bone at the place of the surgery is significantly enhanced. By applying FG, rhBMP-2, bFGF and tobramycin in the place of fracture, it could promote the generation of soft tissue in the fracture healing process, reduce the fracture healing time and improve the bone biomechanical properties.

Key words: rhBMP-2; bFGF; tobramycin; fracture

骨形态发生蛋白(BMP)被认为是最有效的骨诱导分化因子,可以诱导骨髓间充质干细胞特异性的分化为骨和软骨细胞^[1-2]。碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)被证实具有促进成纤维细胞分裂的作用^[3-4]。有研究表明,妥布霉素应用于骨折局部不仅可以预防感染还可以促进骨折修复^[5]。如果将 rhBMP-2、bFGF 和妥布霉素联合应用于骨折愈合理论上能起到比单独应用更好的效果。但目前尚未见到相关的文献报道。另外, rhBMP-2、bFGF 和妥布霉素如果直接应用于骨折部,很快就会被组织吸收,若长期注射抗生素,会加大抗生素的毒副作用也会使细菌产生耐药性。故需要一种缓释载体来承载这些药物,以达到在骨折部位缓慢而持久的释放高浓度药物的目的。胶原纤维蛋白(FG)是一种已经被成熟应用的骨组织工程支架。有低抗原性、优秀的生物相容性等特点,其三维网状结构可以有助于新生细胞的附着还可以减缓药物释放的速度。因此,本研究将 rhBMP-2、bFGF 和妥布霉素联合应用,以 FG 为缓释载体应用在骨折部,观察它对骨折愈合过程的影响,探索新的犬的骨折治疗思路。

1 材料

1.1 动物及分组 市场采购成年已进行过免疫及驱虫、体况良好的小型犬 12 只,雌雄不限。所有犬均建立胫骨骨折模型,右侧肢胫骨骨折模型作为对照组,骨折处不用任何药物;左侧肢胫骨骨折模型作为实验组,骨折处应用 FG/rhBMP-2/bFGF/妥布霉素复合物。

2.2 仪器及药品 常规软组织器械包;骨科器械包;动物麻醉呼吸机(型号:Model3000);美国 MA-

TRX 公司;数字化医用 X 射线摄影系统(型号:Angel1-DR-A-H);深圳市安健科技有限公司;兽用监护仪(型号:ipm12 Vet);深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司;手术无影灯(型号:ZF700);山东铭泰医疗器械有限公司;注射用氨苄西林钠:河北远征药业有限公司,兽药字(2013)030011304;多咪静:硕腾动物保健用品有限公司,外兽药证字 52 号;异氟烷:鲁南贝特制药有限公司,国药准字:H20020267;猪纤维蛋白原(纯度>85%);甘肃农业大学动物医学院外科教研组实验室提取;矛头蝮蛇凝血酶:深圳市康初源有限公司;氯化钙:连云港乐天化工有限公司;碱性成纤维细胞生长因子:赛业(苏州)生物科技有限公司;重组人骨形态发生蛋白:武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;硫酸妥布霉素注射液:上海禾丰制药有限公司,国药准字 H31022032

2 方法

2.1 FG/rhBMP-2/bFGF/妥布霉素复合物的配制 手术开始前 15 min,在严格无菌的条件下制备纤维蛋白胶 A 液和 B 液。A 液的配置:37℃ 水浴加热条件下将 100 mg 纤维蛋白原和 0.8 mL 妥布霉素注射液混合,轻摇震荡使两种药均匀混合;B 液:将 800 mg 人骨形态发生蛋白、3.5 mg 氯化钙、3 mg 凝血酶原和 0.016 mg 碱性成纤维细胞生长因子溶解于 0.8 mL 妥布霉素注射液,混合后轻摇使其完全溶解。放置于双联注射器支架内,待用。

2.2 犬胫骨骨折模型的构建

2.2.1 术前准备、用药与麻醉 术前禁食禁水 12 h,术前 15 min 肌肉注射阿托品(0.05 mg/kg)、尖吻蝮蛇凝血酶(10 U/kg)。肌肉注射多咪静

(500 μg/kg)进行诱导麻醉,动物进入麻醉状态后,插入气管插管并连接动物麻醉呼吸机使用异氟烷进行呼吸麻醉。连接监护仪随时监测动物生命体征。备皮、仰卧保定、后肢悬吊、隔离、消毒。

2.2.2 手术过程 做切口,近端于胫骨内侧髁开始,向前弧形至胫骨干中线,并沿其中线继续向下切开,然后再弧形终止至胫骨内髁。依皮肤切口线切开皮下组织。切开筋膜显露胫骨,再分离筋膜显露诸肌肉。手术设计为先在胫骨上固定一块长度为胫骨 3/2 宽度与胫骨体相当的骨板再锯断胫骨的方法来建立胫骨骨折模型。为使接骨板与胫骨体紧密结合,用骨板弯折器给接骨板塑性,用导孔复位钳固定胫骨体和接骨板方便打孔,通过接骨板导孔在预定锯断胫骨位置的远端和近端各打两个直径 1.5 mm 的孔,并植入骨螺钉,用电动平摆锯在接骨板桥接部位中心点垂直于胫骨将胫骨锯断(锯片宽 7 mm、厚 0.7 mm),由助手持双联注射器将药物缓慢填满骨折处,对照组则不使用任何药物。逐层缝合骨膜、肌肉、皮肤。手术全程在严格无菌条件下进行。

2.2.3 术后护理 安静饲养,使用氨苄西林钠(15 mg/kg)静脉滴注连用三天,做辅助全身抗感染治疗。因为犬两后肢均不能运动,故制作改良托马斯支架辅助支撑,同时每天人为辅助运动后肢,防止肌肉萎缩。

2.3 术后骨折部周围软组织充血水肿消失时间测定 每日拆开托马斯支架采用触诊和视诊的方法,测定术后骨折部周围软组织充血水肿消失时间。

2.4 X 射线影像学观察 术后借助 X 射线观察骨折部的变化。参考唐琳丽^[6]对 X 射线阅片评价标准(见表 1),以此为标准对术后骨折部骨愈合程度进行评分。

2.5 骨密度(BMD)及骨密度比率测定 根据 Kenae^[7]的研究可知,密度为 130 mg/cm² 的骨矿物质等同于厚度为 1 mm 的铝。故将一块标准的梯形铝楔(高 16.0 mm、上底 1.0 mm、下底 18.0 mm)与骨折部放置于同一 X 射线曝光位置下进行拍摄。取与骨折部位灰度相同的铝楔的厚度,即可测出该部

位的骨密度(BMD)。骨密度比率=新生骨骨密度/健康骨骨密度。

表 1 骨折愈合程度 X 射线评分标准
Tab 1 X-ray imaging scoring criteria for fracture healing degree

等级	标准	评分
0	骨折断端骨折线清晰可见,没有可见骨痂	6 分
1	骨折断端骨折线开始模糊,有少量骨痂	12 分
2	骨折断端骨折线模糊,有明显骨痂但密度低于正常骨组织	18 分
3	骨折断端基本愈合但仍有痕迹,骨痂密度与正常骨组织几乎相同	24 分
4	骨折断端完全愈合,与正常骨组织相同	30 分

2.6 骨痂体积测定 术后第 4 周和第 8 周,随机抽取两只实验犬,手术暴露骨折部位,测量骨痂长度(L)骨痂半径(R2)和胫骨半径(R1)。参考 Perkins^[7]骨痂体积计算公式: $2\pi R1(R2-R1)L$,计算出骨痂体积。

2.7 骨生物力学强度测定 术后第 16 周采用丙泊酚静脉注射麻醉后静脉注射氯化钾的方法将动物安乐死,截取两侧胫骨,除去骨板及覆盖在胫骨表面的软组织。使用微机控制电子万能(拉力)试验机,对胫骨进行三点弯曲破坏实验。跨距 56 mm 对胫骨的载荷为 2.00 mm/min,直到胫骨折断,记录胫骨折断时胫骨弯曲的位移和胫骨承受的拉力。

2.8 统计学方法 本研究所有统计学分析均由统计软件 SPSS22.0 完成。数据之间的比较采用独立样本 t 检验。

3 结果与分析

3.1 术后骨折部周围软组织充血水肿消失时间

表 2 术后骨折部周围软组织充血水肿消失时间
Tab 2 Time of disappearance of congestion and edema of soft tissue around fracture after operation

分组	n	红,肿,热消失时间/天
实验组	12	6.62 ± 0.94 [#]
对照组	12	9.34 ± 0.95

* 表示组内比较, # 表示与对照组比较, * / # P < 0.05, ** / # P < 0.01

由表 2 可知,术后术部软组织红,肿,热消失时间实验组明显短于对照组。

3.2 X 光影像学综合评分结果 由表 3 可知,术后实验组第 2 周、4 周、8 周、12 周影像学评分结果

均显著高于对照组 ($P>0.01$)。第 16 周影像学评分实验组高于对照组但差异不显著 ($P>0.05$)。实验组术后 16 周与术后 12 周相比,差异不显著 ($P>0.05$),说明术后 12 周骨骼已基本愈合。

表 3 X 光影像学评分结果
Tab 3 X-ray imaging score results

分组	X 光影像学综合评分				
	术后第 2 周 (n=12)	术后第 4 周 (n=12)	术后第 8 周 (n=9)	术后第 12 周 (n=6)	术后第 16 周 (n=6)
实验组	1.000 ± 2.93##	16.8 ± 2.49 ** /##	23.50 ± 1.74 ** /##	29.34 ± 2.00 ** /##	30.00 ± 0.00
对照组	6.00 ± 0.00	10.81 ± 2.49 **	16.51 ± 2.72 **	22.68 ± 2.65 **	28.00 ± 3.08 **

* 表示组内比较, #表示与对照组比较, * /# $P<0.05$, ** /## $P<0.01$

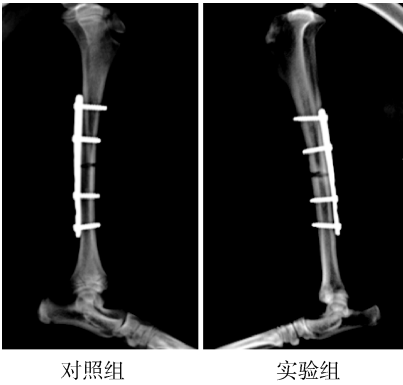


图 1 术后第 2 周
Fig 1 2nd week after operation

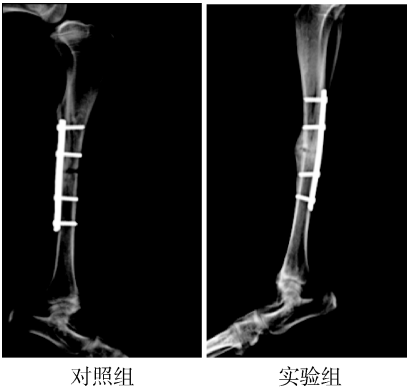


图 3 术后第 6 周
Fig 3 6nd week after operation

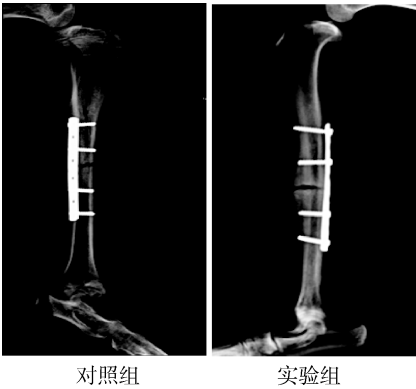


图 2 术后第 4 周
Fig 2 4nd week after operation

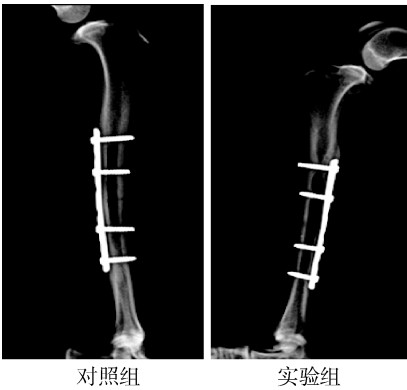


图 4 术后第 8 周
Fig 4 8nd week after operation

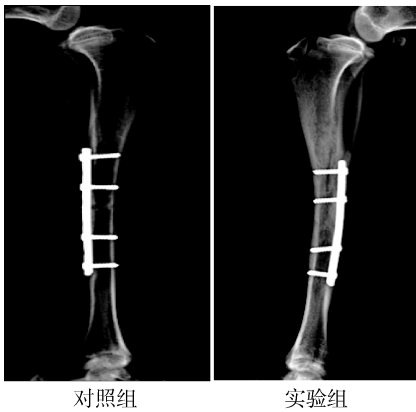


图 5 术后第 12 周

Fig 5 12nd week after operation

表 4 术后各时间点 BMD 及 BMD 比率

Tab 4 BMD and BMD ratio at different time points after operation

分组	术后各时间点 BMD 及 BMD 比率			
	第 4 周 (n = 12)	第 8 周 (n = 9)	第 12 周 (n = 6)	第 16 周 (n = 6)
实验组 BMD(g/cm3)	0.64 ± 0.58##	1.06 ± 0.45 * * /##	1.60 ± 0.34 * * /##	1.63 ± 0.43#
对照组 BMD(g/m3)	0.43 ± 0.40	0.76 ± 0.36 * *	1.16 ± 0.57 * *	1.49 ± 0.55 * *
实验组 BMD 比率(%)	38.44 ± 01.91##	63.37 ± 1.48 * * /##	95.46 ± 1.19 * * /##	97.48 ± 1.40#
对照组 BMD 比率(%)	25.21 ± 1.35	45.65 ± 2.01 * *	69.48 ± 1.98 * *	89.44 ± 1.80 * *

* 表示组内比较, #表示与对照组比较, * /#P < 0.05, * * /##P < 0.01

表 5 术后各时间点骨痂体积测量结果

Tab 5 Measurement results of mineralization volume at different time points after operation

分组	术后各时间点骨痂体积/cm3	
	第 4 周(n = 12)	第 8 周(n = 9)
实验组	2.54 ± 0.12##	1.89 ± 0.05#
对照组	1.54 ± 0.15	1.42 ± 0.23

* 表示组内比较, #表示与对照组比较, * /#P < 0.05, * * /##P < 0.01

表 6 术后 16 周胫骨生物力学测定结果

Tab 6 Measurement test results of tibia at 16th week after operation

分组	n	可承受最大载荷(N)	可承受最大位移(mm)
实验组	3	72.12 ± 2.00#	1.20 ± 0.06#
对照组	3	6450 ± 2.52	1.00 ± 0.05

* 表示组内比较, #表示与对照组比较, * /#P < 0.05, * * /##P < 0.01

3.3 BMD 及 BMD 比率测定结果 由表 4 可知, 术后实验组第 2 周、4 周、8 周、12 周影像学评分结果均显著高于对照组 ($P > 0.01$)。第 16W 影像学评分实验组高于对照组但差异不显著 ($P > 0.05$)。

3.4 骨痂体积 由表 5 可知, 术后 4 周和术后 8 周实验组骨痂体积均大于对照组。

3.5 骨生物力学强度测定结果 由表 6 可知, 术后 16 周, 实验组胫骨可以承受的最大位移和最大载荷均显著高于对照组 ($P < 0.05$)。

4 讨论与结论

4.1 FG 联合 rhBMP-2、bFGF 与妥布霉素对 X 射线评分的影响 骨折愈合最初两周, 是内外骨痂和桥梁骨痂形成、以及相互融合后形成原始骨痂的过程。观察术后第 2 周 X 光片发现, 实验组骨折断端较清晰, 骨折线开始模糊, 可见少量骨痂但边缘不整齐 X 射线评分为 10.00 分, 对照组骨折断端清晰, 边缘模糊, 几乎看不见骨痂生长 X 射线评分为 6.00 分。因为内骨痂、桥梁骨痂由于骨皮质的重叠及骨化慢所以 X 光片上不易显影^[8]。在 X 光片上可见密度比骨皮质低的梭形骨痂阴影(外骨痂)。因此, 实验组犬胫骨较对照组更早开始骨折的修复。

BMP 作为骨折修复中骨生成的启动因子, 在骨折愈合前期起主要作用。BMP-2 可以诱导间充质

细胞分化为骨细胞,同时有研究表明^[9],BMP-2 同时也可以诱导成纤维细胞等向骨细胞分化^[10]。bFGF 有促进由间质细胞分化而来的骨细胞增殖的作用^[11]。也可促进骨折愈合过程中建立良好的血运^[12-13],而有的研究认为^[14],在一些骨不连接的组织中的成骨细胞其实和正常成骨细胞在功能上是一致的。因此,在术后第 4 周和第 8 周实验组 X 光影像评分都显著高于对照组,且从 X 光片上可得知,实验组在第 8 周骨皮质连接骨折线就已基本消失,而对照组一直到第 12 周才达到相同的效果。实验组能够比对照组更快的使骨折愈合,是因为 FG 联合 rhBMP-2、bFGF 与妥布霉素形成的网状立体结构,可使 rhBMP-2、bFGF 缓慢的作用于骨折部位,加快骨细胞分化,促进新血管生成。

4.3 FG 联合 rhBMP-2、bFGF 与妥布霉素对骨痂体积的影响 骨痂体积可以作为骨折愈合程度的辅助方法之一,骨痂生成的多证明骨折愈合速度较快,骨痂生成的少证明骨折愈合的速度较慢^[15]。本研究表明,术后第 4 周和第 8 周测量骨痂体积实验组比对照组大。因为 FG 联合 rhBMP-2、bFGF 与妥布霉素应用于骨折部位,包裹住受伤组织可以减小血肿扩大,所以骨折能尽快以膜内成骨的方式达到愈合。妥布霉素作为一种抗生素可以有效抑制感染。bFGF 可以促进血管生成,细胞迁移及增殖。巨噬细胞具有吞噬运输坏死物质的功能,在骨折愈合初期有重要的作用,而 FG 可以促进巨噬细胞向骨折部位迁移^[16]。FG 联合妥布霉素、rhBMP-2 与 bFGF 在骨愈合时期促进骨折部位周围组织建立了更好的血液供应系统,促进了纤维性骨痂中胶原纤维的生成。当在 X 光片上看不到骨痂间隙,骨痂与骨皮质界限分不清楚时,骨折已达到骨性愈合,这时骨痂中的破骨细胞开始清除不需要的骨组织,同时在骨痂不足的部位成骨细胞产生新骨^[17]。无论是实验组还是对照组在术后 8 周的骨痂体积都小于第 4 周,说明骨折在第 8 周已经进入骨痂重塑期。

4.4 FG 联合 rhBMP-2、bFGF 与妥布霉素对 BMD 和骨生物力学强度的影响 骨折后形成的原始骨

痂非常脆弱,只能起到暂时固定的作用,要形成坚固的成熟骨形态,需要通过骨改建的过程,术后第 16 周测定不论是骨生物力学强度还是 BMD 实验组都明显高于对照组。说明实验组骨折部更坚固。新生成的骨钙化是一个重要的过程,良好的血运可以运输充足的 Ca^{+} 和血 P^{+} 到达骨折部。bFGF 可以促进血管生成建立良好的血液供应^[18]。骨胶原纤维与胶原纤维都是由 I 型胶原蛋白组成的,但是骨胶原蛋白的化学键不同,骨胶原蛋白有更好的稳定性,是沉积钙盐的重要结构^[19]。bFGF 同时还能促进 APL(碱性磷酸酶)的释放,APL 是骨骼愈合中非常重要的一种酶可以使骨折部无机磷的浓度升高,对新生成骨矿物质沉积有促进作用^[20]。所以 FG 联合妥布霉素、rhBMP-2 与 bFGF 促进建立良好的血液循环网络、促进间质细胞分化、促进成骨细胞增殖、促进 ALP 释放是术后实验组 BMD 高于对照组的原因^[21-22]。

4.5 结论 FG 联合 rhBMP-2、bFGF 与妥布霉素,可加快骨折愈合的速度,缩短骨折愈合的时间,可促使骨折愈合过程中骨痂的形成,促使骨折愈合过程中骨矿物质的沉积和骨折愈合后生物力学强度的恢复,对骨折术部软组织愈合也具有一定的促进作用。四种材料相辅相成,参与骨折愈合的全过程,具有良好的促进骨折愈合效果,为犬骨折临床治疗提供了一个新方案。

参考文献:

- [1] Riedel G E,Valentin-Opran A. Clinical evaluation of rhBMP-2/ACS in orthopedic trauma: a progress report. [J]. Orthopedics,1999,22(7):663-665.
- [2] Sykaras Nikitas,Opperman Lynne A. Bone morphogenetic proteins (BMPs): how do they function and what can they offer the clinician? [J]. Journal of Oral Science,2003,45(2):57-73.
- [3] Kleinheinz J,Strammann U,Joos U,et al. VEGF-activated angiogenesis during bone regeneration[J]. J Oral Maxillofac Surg 2005, 63(9):1310-1316.
- [4] Wen J M,Xu X P,Dong J W,et al. Effects on VEGF and VEGF mRNA expression in tissues of callus in treating fracture of rabbit with three period treatment theory of bone fracture in traditional Chinese

- medicine[J]. *Zhongguo Zhong Yi Yao Za Zhi*, 2007, 32(24): 2640–2645.
- [5] 范存义, 汤林祥, 吴文革, 等. 负载妥布霉素的硫酸钙治疗慢性骨髓炎及合并骨缺损的疗效评价[J]. *中华创伤骨科杂志*, 2005(10): 954–956.
- Fan C Y, Tang L X, Wu W G, *et al.* Efficacy evaluation of Osteo-set – T in treatment of chronic osteomyelitis with or without bone defects[J]. *Chinese Journal of Orthopaedic Trauma*, 2005(10): 954–956.
- [5] 唐玲丽, 沈兵, 尹毅, 等. 苯妥英促进骨折愈合的临床观察[J]. *中国修复重建外科杂志*, 1999(06): 343–345.
- Tang L L, Sheng B, Yin Y, *et al.* Clinical observation of phenytoin in promoting fracture healing[J]. *Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery*, 1999(06): 343–345.
- [6] Danis R. The aims of internal fixation[J]. *Clin Orthop*, 1979, 138: 23–25.
- [7] B. e. keane, G. spiegler, R. dav. Quantitative Evaluation of Bone Mineral By a Radiographic Method[J]. *Br. J. Radiol.*, 1959, 卷缺失(32): 162–167.
- [8] Dezhi M, Xiangning J, R. Ann S, *et al.* Regulation of hypoxia – inducible factor 1 α and induction of vascular endothelial growth factor in a rat neonatal stroke model[J]. *Neurobiology of Disease*, 2003, 14(3): 127–135.
- [9] 苏云, 孟祥俊, 孙强, 等. BMP/VEGF/PLGA 复合物促进兔骨折愈合的实验研究[J]. *中国老年学杂志*, 2009, 29(23): 3054–3056.
- Shu Y, Meng X J, Shun Q, *et al.* Experimental study of BMP/VEGF/PLGA complex promoting fracture healing in rabbits[J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2009, 29(23): 3054–3056.
- [10] F Debais, G Lefèvre, J Lemonnier, *et al.* Fibroblast growth factor – 2 induces osteoblast survival through a phosphatidylinositol 3 – kinase – dependent, – β – catenin – independent signaling pathway[J]. *Experimental Cell Research*, 2004, 297(1).
- [11] Anon. The classic. the aims of internal fixation. [J]. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 1979, 138: 5–23.
- [12] 梁小军, 颜晓峰. 胫腓骨骨折软组织问题的临床分析[J]. *中国当代医药*, 2013, (19): 189–190.
- Liang X J, Yan X F, Clinical analysis of soft tissue defect of tibia and fibula fracture[J]. *China Modern Medicine*, 2013, (19): 189–190.
- [13] Mosesson M W. Fibrinogen and Fibrin Structure and Functions. [J]. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2005, 3(8): 904–1894.
- [14] 王志鑫, 陈浩宏. 骨折愈合学. 武汉: 湖北科学技术出版社, 1995. 08.
- Wang Z X, Chen H H. Fracture healing. Wuhan: Hubei Science and Technology Press, 1995. 08.
- [15] Sporn L A, Bunce L A, Francis C W. Cell proliferation on fibrin: modulation by fibrinopeptide cleavage. [J]. *Blood*, 1995, 86(5): 10–1802.
- [16] Cox steve, Cole marietta, Tawil bill. Behavior of human dermal fibroblasts in three – dimensional fibrin clots: dependence on fibrinogen and thrombin concentration. [J]. *Tissue Engineering*, 2004, 10(5): 54–942.
- [17] Yoshihiro Y, Hiroyuki K, Yasuhiko T, *et al.* Controlled delivery of bFGF remodeled vascular network in muscle flap and increased perfusion capacity via minor pedicle[J]. *Journal of Surgical Research*, 2007, 147(1).
- [18] Kang Q, Sun M H, Cheng H, *et al.* Characterization of the distinct orthotopic bone – forming activity of 14 bmps using recombinant adenovirus – mediated gene delivery. [J]. *Gene Therapy*, 2004, 11(17): 20–1312.
- [19] Hiroyuki N, Mikio K, Kenji T, *et al.* Changes in total alkaline phosphatase level after hip fracture: comparison between femoral neck and trochanter fractures [J]. *Journal of Orthopaedic Science*, 2006, 11(2): 135–139.
- [20] Mahmoud M, Upton P D, Arthur H M. Angiogenesis regulation by Tgf β signalling: clues from an inherited vascular disease. [J]. *Biochemical Society. Transactions*, 2011, 39(6): 1666–1659.
- [21] 尹东, 杨惠林, 唐天驷, 等. 骨折愈合中生物力学特性变化的实验研究[J]. *陕西医学杂志*, 2004(12): 1102–1103.
- Yin D, Yang H L, Tang T S, *et al.* Studies on the mechanical properties of callus in canine tibial Fracture healing[J]. *Shaanxi Medical Journal*, 2004(12): 1102–1103.
- [22] D. M Reffitt, N Ogston, R Jugdaohsingh, *et al.* Orthosilicic acid stimulates collagen type 1 synthesis and osteoblastic differentiation in human osteoblast – like cells *in vitro* [J]. *Bone*, 2003, 32(2): 127–135.

(编辑: 陈希)