

骨形态发生蛋白植入长骨干粉碎性骨折周围：预防骨折内固定后的不愈合

张 弩, 张 春, 刘世清(武汉大学人民医院骨三科, 湖北省武汉市 430060)

文章亮点:

文章将骨形态发生蛋白植入长骨干粉碎性骨折周围, 利用骨形态发生蛋白诱导成骨, 促进骨折愈合的作用, 预防骨折内固定后不愈合的发生。结果证实骨形态发生蛋白可以缩短骨折愈合时间, 预防骨折内固定后不愈合。

关键词:

生物材料; 骨生物材料; 骨形态发生蛋白; 内固定; 粉碎性骨折; 不愈合

主题词:

生物相容性材料; 内固定器; 骨形态发生蛋白质类; 骨折

摘要

背景: 长骨干粉碎性骨折由于骨折周围软组织损伤较重, 血运受到破坏, 且骨折块解剖复位较困难, 内固定不够坚强, 导致骨折内固定后不愈合的发生率高于单纯线性骨折。

目的: 检验骨形态发生蛋白预防长骨干粉碎性骨折内固定后不愈合的效果。

方法: 选择长骨干粉碎性骨折患者 145 例, 按患者意愿分为 2 组治疗。试验组 78 例, 男 48 例, 女 30 例, 年龄 18-70 岁, 闭合骨折 57 例, 开放骨折 21 例, 采用锁定钢板内固定结合植入含有重组人骨形态发生蛋白 2 的骨修复材料修复。对照组 67 例, 男 42 例, 女 25 例, 年龄 18-71 岁, 闭合骨折 49 例, 开放骨折 18 例, 仅用锁定钢板内固定修复。术后随访 6-18 个月, 对比两组术后骨折愈合时间及骨折不愈合率。

结果与结论: 试验组骨折平均愈合时间为 6.17 个月, 无骨折不愈合; 对照组骨折平均愈合时间为 7.24 个月, 骨折不愈合率为 7%。与对照组相比, 试验组骨折愈合时间短, 骨折不愈合率低, 差异有显著性意义($P < 0.05$)。提示骨形态发生蛋白植入长骨干粉碎性骨折周围, 可以缩短骨折愈合时间, 降低骨折内固定后不愈合率。

张弩, 张春, 刘世清. 骨形态发生蛋白植入长骨干粉碎性骨折周围: 预防骨折内固定后的不愈合[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(43):6902-6906.

张弩, 男, 1969 年生, 湖北省武汉市人, 汉族, 2011 年武汉大学毕业, 博士, 副主任医师, 主要从事骨科创伤方面的研究。

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2014.43.003
<http://www.crter.org>

中图分类号:R318

文献标识码:A

文章编号:2095-4344

(2014)43-06902-05

稿件接受: 2014-08-05

Internal fixation plus bone morphogenetic protein for prevention of bone nonunion after comminuted fracture of the shaft of long bones

Zhang Nu, Zhang Chun, Liu Shi-qing (Department of Orthopedics, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China)

Abstract

BACKGROUND: In the comminuted fractures of the shafts of long bones, the fracture repair process may be halted after internal fixation by locking compression plate and a higher bone nonunion rate occurs due to severe soft tissue damage, inadequate blood supply, poor cortical apposition, or unstable fracture fixation.

OBJECTIVE: To examine the effect of bone morphogenetic protein in the prevention of nonunion of long bone comminuted fractures after internal fixation by locking compression plate.

METHODS: Totally 145 long bone comminuted fracture patients were enrolled and randomly divided into test and control groups according to the wishes of patients. The test group included 78 patients (48 males and 30 females, 18-70 years old; 57 cases of closed fractures and 21 cases of open fractures) who were treated with internal fixation by locking compression plate combined with bone morphogenetic protein; the control group included 67 patients (42 males and 25 females, 18-71 years old; 49 cases of closed fractures and 18 cases of open fractures) who were treated with internal fixation by locking compression plate. The fracture healing time and rate of non-union were detected and compared in the two groups after a postoperative follow-up of 6-18 months.

RESULTS AND CONCLUSION: In the test group, the average fracture healing time was 6.17 months, without non-union. In the control group, the average fracture healing time was 7.24 months, and the rate of non-union was 7%. Compared with the control group, the fracture healing time was shorter and the rate of non-union was lower in the test group ($P < 0.05$). The use of bone morphogenetic protein is an effective method to shorten fracture healing time and prevent non-union of long bone comminuted fractures after internal fixation by locking compression plate.

Subject headings: biocompatible materials; internal fixators; bone morphogenetic proteins; fractures, bone

Zhang N, Zhang C, Liu SQ. Internal fixation plus bone morphogenetic protein for prevention of bone nonunion after comminuted fracture of the shaft of long bones. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2014;18(43):6902-6906.

Zhang Nu, M.D., Associate chief physician, Department of Orthopedics, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China

Accepted: 2014-08-05

0 引言 Introduction

骨折愈合是受多种因素影响的极其复杂的生物学修复过程, 最终是恢复骨的连续性, 重新获得骨结构的强度和正常功能。骨折治疗的三大原则即复位、固定、功能锻炼。由于切开复位内固定手术能获得骨折解剖复位并维持已整复的位置, 保障正常骨折愈合过程的进行, 为早期的肌肉关节活动创造条件, 还可以镇痛, 解除肌肉痉挛, 防止骨折再移位造成继发损伤, 因此骨折内固定手术已成为治疗大多数骨折的首选方法。对于长骨干粉碎性骨折, 由于交锁髓内钉内固定闭合插钉技术难度较大, 很难实现解剖复位, 软组织可能嵌入骨折断端间, 影响骨折愈合, 而切开复位加上扩髓, 会进一步损伤骨折端血运, 因此切开复位锁定钢板内固定成为治疗长骨干粉碎性骨折的一个较好选择。锁定钢板是AO组织在动力加压接骨板和有限接触动力加压接骨板的基础上研发的一种全新的骨折内固定系统。锁定钢板使自攻型锁定螺钉及钢板通过锥形螺纹锁定, 形成一体, 使锁定钢板与骨组织形成一个框架结构, 对骨折粉碎区进行稳定的桥接固定, 对于骨干部分则不强调钢板与骨面的紧密接触, 允许彼此分离, 可以少或不剥离骨膜, 因此对骨折端的骨膜完整性和血运破坏小, 防止传统加压钢板依靠钢板与骨之间的摩擦力固定断端所致局部血运的破坏, 最大限度的为骨折提供良好的环境, 保证了骨折的顺利愈合^[1-3]。大多数骨折经治疗后都能顺利愈合, 但仍有5%~10%的骨折发展成延迟愈合或不愈合^[4-5], 成为困扰骨科医生的棘手问题。

骨折愈合的先决条件是骨折局部必须有充足的血供, 骨诱导生长因子, 多能干细胞和提供细胞附着、生长增殖的基质^[6-7], 即骨折愈合需要有良好的生物学反应, 没有生物活性, 骨折愈合就无法进行。随着分子生物学技术在骨科基础研究领域的发展, 出现了应用生长因子促进骨折愈合的新型治疗方法。骨形态发生蛋白属于转化生长因子 β 超家族^[8-9], 具有诱导未分化的间充质干细胞向成软骨细胞和成骨细胞定向分化与增殖的能力, 能促进新骨形成^[10]。Urist^[11]在实验中将冻干同种异体骨基质移植入兔肌肉内, 发现局部有新骨形成, 他认为是由骨基质中的一种蛋白质所引发, 命名为骨形态发生蛋白。骨形态发生蛋白家族成员众多, 其中骨形态发生蛋白2和骨形态发生蛋白7对骨创伤及其修复的作用研究得较为深入, 并能通过基因重组技术生产。多项临床研究评估了重组骨形态发生蛋白在治疗骨折和骨折不愈合中的作用。Govender^[12]及同事最早进行了随机对照试验, 评估重组人骨形态发生蛋白2在治疗开放性胫骨骨折中的作用及安全性。他们将开放性胫骨骨折患者随机分为髓内钉固定组和髓内钉固定加重重组人骨形态发生蛋白2组, 发现重组人骨形态发生蛋白2组与髓内钉固定组相比, 骨折愈合明显加快, 而且感染率更低, 需要2次干预的情况更少, 没有明显的不良反应。Jones^[13]及同事进行了一项前瞻性随机对照研究, 评估重组人骨形态发生蛋白2结合同种异体骨移植治疗伴有骨缺损的胫骨干骨折的疗效。他们将伴有骨缺损的胫骨干骨折

患者随机分为自体骨移植组和重组人骨形态发生蛋白2结合同种异体骨移植组, 发现两组的骨折愈合率比较差异无显著性意义, 重组人骨形态发生蛋白2组中每个骨缺损平均使用12 mg重组人骨形态发生蛋白2, 其中有1/3患者出现了浅表性红斑, 12周前完全消退, 1例患者出现短暂的I型牛胶原蛋白抗体。Friedlaender^[14]及同事最早进行了用重组人骨形态发生蛋白7治疗骨不愈合的前瞻性随机对照研究。他们将接受了内固定的胫骨不愈合患者随机分为重组人骨形态发生蛋白7组和自体骨移植组, 结果显示术后9个月($P=0.0524$)和2年($P=0.93$)骨折愈合率比较差异无显著性意义, 而且重组人骨形态发生蛋白7组中吸烟和萎缩性骨不愈合的病例数高于自体骨移植组。

虽然重组人骨形态发生蛋白是促进骨折修复最常用的生长因子, 但由于以下原因对其在人体应用的疗效受到了一定的影响: ①重组人骨形态发生蛋白的半衰期较短, 在骨折局部很难维持较高的浓度。②虽然重组人骨形态发生蛋白的缓释研究取得了一定的进展, 但仍没有发现理想的重组人骨形态发生蛋白载体。③目前重组人骨形态发生蛋白在人体超生理剂量应用, 对骨组织和非肌肉骨骼组织的长期影响还不明确。④重组人骨形态发生蛋白应用的并发症, 如局部炎症反应, 异位骨化等^[6-7, 15-16]。含有重组人骨形态发生蛋白2的骨修复材料骨优导, 由杭州华东医药集团投资有限公司(杭州华东基因技术研究所)生产, 已获得国家食品药品监督管理局注册批准的III类医疗器械, 符合III类医疗器械生物学评价相关标准的要求, 达到无菌、无细胞毒性、无致热原性、无遗传毒性、无致敏性、无组织刺激性、具有良好的组织相容性及缓释特性, 且具有诱导成骨能力^[17-18]。武汉大学人民医院骨科于2008年9月至2013年7月应用含有重组人骨形态发生蛋白2的骨修复材料预防长骨干粉碎性骨折内固定后不愈合, 取得了满意效果。

1 对象和方法 Subjects and methods

设计: 对比观察试验。

时间及地点: 于2008年9月至2013年7月在武汉大学人民医院骨科完成。

对象:

纳入标准: ①年龄18~71岁。②长骨干粉碎性骨折行锁定钢板内固定的患者。③长骨干粉碎性骨折无骨缺损无需植骨的患者。④所有患者术前均行胸片、心电图及肝肾功能化验检查, 术前如合并内科疾病应请相关科室会诊协助治疗。⑤入选患者在手术前均在自愿、知情前提下, 通过伦理委员会同意, 签署手术同意书。⑥所有患者术后均在医师指导下行患肢功能锻炼。

排除标准: ①精神病及不能配合治疗的患者。②合并内科疾病未请相关科室会诊协助治疗的患者。③长骨干粉碎性骨折伴有骨缺损需植骨的患者。④术后未在医师指导下行患肢功能锻炼, 过早负重的患者。⑤术后发生伤口感

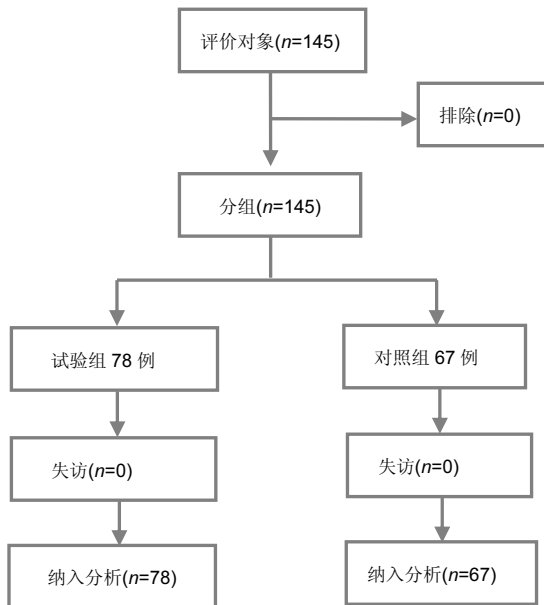


图 1 骨形态发生蛋白预防骨折内固定后不愈合试验的分组流程图

Figure 1 Grouping flow chart of patients who were treated with internal fixation by locking compression plate combined with bone morphogenetic protein

图注: 长骨干粉碎性骨折切开复位锁定钢板内固定后, 试验组于骨折周围植入含有重组人骨形态发生蛋白 2 的骨修复材料, 对照组未植入。

染的患者。⑥术后钢板松动内固定失效的患者。

共纳入患者 145 例, 根据患者意愿分为 2 组。长骨干粉碎性骨折切开复位锁定钢板内固定后, 试验组于骨折周围植入含有重组人骨形态发生蛋白 2 的骨修复材料; 对照组未植入。

试验组 78 例, 男 48 例, 女 30 例; 年龄 18-70 岁; 创伤原因: 车祸伤 29 例, 高处坠落伤 13 例, 重物压砸伤 11 例, 机器挤压伤 9 例, 跌伤 16 例; 胫腓骨干骨折 28 例, 股骨干骨折 21 例, 尺桡骨干骨折 11 例, 肱骨干骨折 18 例; 闭合骨折 57 例, 开放骨折 21 例。

对照组 67 例, 男 42 例, 女 25 例; 年龄 18-71 岁; 创伤原因: 车祸伤 27 例, 高处坠落伤 12 例, 重物压砸伤 8 例, 机器挤压伤 7 例, 跌伤 13 例; 胫腓骨干骨折 25 例, 股骨干骨折 17 例, 尺桡骨干骨折 10 例, 肱骨干骨折 15 例; 闭合骨折 49 例, 开放骨折 18 例。

骨组织修复材料: 含有重组人骨形态发生蛋白 2 的骨修复材料, 由杭州华东医药集团投资有限公司(杭州华东基因技术研究所)生产, 已获得国家食品药品监督管理局注册批准的 III 类医疗器械, 符合 III 类医疗器械生物学评价相关标准的要求, 达到无菌、无细胞毒性、无致热原性、无遗传毒性、无致敏性、无组织刺激性、具有良好的组织相容性及缓释特性, 且具有诱导成骨能力。所含的重组人骨形态发生蛋白 2 是采用基因工程方法, 用大肠杆菌发酵技术大规模生产得到包涵体形式的重组蛋白, 经包涵体变性、复性、蛋白质纯化等工艺得到, 然后与药用明胶、注射用大豆卵磷脂、羟基磷灰石等载体混合, 冷冻干燥, 分装, 灭菌后而得到骨组织修复材料。

表 1 两组患者骨折愈合时间及骨折不愈合率比较

Table 1 Fracture healing time and rate of nonunion in the two groups

组别	n	骨折愈合时间($\bar{x}\pm s$, 月)	骨折不愈合率
试验组	78	6.17±1.29	0
对照组	67	7.24±1.22	7%
t		-5.003	
χ^2			3.996
P		< 0.05	< 0.05

表注: 试验组内固定同时植入骨形态发生蛋白, 对照组仅内固定处理。结果显示, 骨形态发生蛋白可缩短内固定后骨折愈合时间, 预防骨折不愈合($P < 0.05$)。

方法:

围手术期处理: 开放性骨折均急诊行清创缝合手术, 将开放性骨折转为闭合性骨折, 然后给予骨牵引或石膏外固定, 待伤口情况允许后行切开复位锁定钢板内固定。闭合性骨折行骨牵引或石膏外固定, 待肢体肿胀消退后行切开复位锁定钢板内固定。术后常规静滴广谱抗生素 3-5 d 预防伤口感染, 在医师指导下行患肢功能锻炼。

修复方法: 根据患者身体情况及骨折部位, 选择全麻、连续硬膜外麻醉或臂丛麻醉。术中清除血肿, 少剥离骨膜, 对碎骨片的游离程度要特别关注, 尽量保留骨片的血运, 直视下尽量将骨片复位。一般锁定板的长度是粉碎性骨折段长度的 2 倍, 固定骨折远近端, 钻孔, 选用合适长度自攻螺钉锁定固定, 粉碎骨块用可吸收缝线捆扎固定于钢板上。试验组在骨折复位锁定钢板固定后, 于骨折周围植入含有重组人骨形态发生蛋白 2 的骨修复材料, 该材料每盒含 4 块, 每块相当于口服药片大小, 一般于骨折周围均匀分散植入, 如骨折范围较广, 需用 2 盒骨修复材料。对照组未植入。

主要观察指标: 比较两组患者骨折愈合时间及骨折不愈合率等指标。

骨折临床愈合标准: ①骨折局部无压痛及纵向叩痛, 无异常活动。②X 射线片显示骨折处有连续性骨痂通过, 骨折线已模糊。

骨折不愈合诊断标准: ①骨折断端间有异常活动。②X 射线片显示骨折端分离, 萎缩光滑, 骨痂少, 骨髓腔被致密硬化的骨质封闭。③在时间判断上没有绝对的标准, 一般为骨折后 9 个月^[19]。

统计学分析: 所得数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 由本文作者采用 SPSS 18.0 软件进行统计学处理, 两组间骨折愈合时间比较采用 t 检验, 骨折不愈合率比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 参与者数量分析 所有患者均获得随访, 按意向性处理分析, 145 例患者均进入结果分析, 无脱落。

2.2 分组流程图 见图 1。

2.3 基线资料比较 两组患者性别比例、年龄、致伤原因、骨折部位、开放及闭合骨折例数等基线资料比较差异无显著

性意义($P > 0.05$), 具有可比性。

2.4 两组治疗效果比较 两组患者内固定后伤口均一期愈合, 在骨折愈合期间未见内固定物松动失效。下肢在骨折周围出现骨痂后开始扶双拐下地逐步负重功能锻炼。试验组术后3, 4, 5, 6, 7, 8, 9个月分别有3例、7例、5例、35例、17例、9例、2例骨折愈合, 未出现骨折不愈合, 骨折平均愈合时间为6.17个月。对照组术后4, 5, 6, 7, 8, 9个月分别有2例、4例、9例、16例、24例、7例骨折愈合, 出现5例骨折不愈合, 骨折平均愈合时间为7.24个月, 骨折不愈合率为7%。比较两组骨折愈合时间和骨折不愈合率数据间差异均有显著性意义, 见表1, 试验组较对照组骨折愈合时间明显缩短, 骨折不愈合率明显下降。

2.5 不良事件 本组患者在应用含有重组人骨形态发生蛋白2的骨修复材料后, 未出现皮肤过敏、局部炎症反应、异位骨化等不良事件, 可能与本试验观察的病例数较少有关。

3 讨论 Discussion

3.1 长骨干粉碎性骨折钢板内固定后不愈合的原因 Niiikura等^[20]将发生骨折不愈合的相关因素分为患者因素和非患者因素, 患者因素包括内科疾病, 如糖尿病, 血管疾病等, 吸烟, 使用非类固醇抗炎药, 高龄, 酗酒, 营养不良, 接受过放射治疗, 遗传疾病(如成骨不全症), 代谢疾病(如甲状腺功能减退症和维生素D缺乏); 非患者因素包括粉碎性骨折, 骨折周围软组织损伤, 骨折断端间软组织嵌入, 骨缺损, 治疗方法不当和感染。对于长骨干粉碎性骨折钢板内固定后不愈合的原因一般包括^[21-26]: ①内固定术后伤口感染, 严重可导致骨感染或骨髓炎, 骨质硬化和细菌破坏造成骨折不愈合。②粉碎性骨折多伴有软组织损伤, 造成局部血运较差, 加上手术时剥离过多, 进一步破坏骨折端的血液供应, 导致骨折延迟愈合或不愈合。③钢板长度及螺钉数目不够, 钢板安放位置不正确, 没有放置在骨干的张力侧, 导致内固定不牢固, 内固定失效而造成骨折不愈合。④粉碎性骨折伴有骨缺损时, 没有一期植骨, 可导致骨折不愈合。⑤不合理的功能锻炼和过早负重也可导致骨折不愈合。

3.2 长骨干粉碎性骨折钢板内固定后不愈合的预防 临床上即使尽量避免发生导致骨折不愈合的各种因素, 但治疗中仍然会出现骨折不愈合, 因此有必要通过一些干预方法来预防骨折内固定后骨折不愈合。因为自体骨具有骨诱导及骨传导特性, 通过爬行替代作用, 能与受区骨骼融合为一体, 形成新的重建骨组织, 因此自体骨移植是治疗骨缺损及骨折不愈合的最常用方法^[27-28], 但对于无骨缺损的粉碎性骨折, 内固定同时是否一期植入自体骨, 来防止骨折不愈合仍存在争论, 因为取自体骨会在患者身上多增加一个外科手术, 而且有发生伤口感染、神经损伤及取骨处慢性疼痛等并发症发生的可能。随着对骨形态发生蛋白的深入研究, 已证明骨形态发生蛋白具有促进骨折愈合的

作用^[12-13]。由杭州华东医药集团投资有限公司(杭州华东基因技术研究所)生产的含有重组人骨形态发生蛋白2的骨修复材料, 已获得国家食品药品监督管理局注册批准的Ⅲ类医疗器械, 符合Ⅲ类医疗器械生物学评价相关标准的要求, 达到无菌、无细胞毒性、无致热原性、无遗传毒性、无致敏性、无组织刺激性、具有良好的组织相容性, 在体内能缓释重组人骨形态发生蛋白, 具有诱导成骨能力^[17-18]。由于骨折不愈合的因素很多, 为了明确骨形态发生蛋白是否具有预防内固定后不愈合的作用, 作者分组选择病例时尽量做到两组性别比例、年龄、致伤原因、骨折部位、开放及闭合骨折例数等基线资料无显著性差异, 并排除可能因术后感染、内固定失效、骨缺损和功能锻炼不正确导致骨折不愈合的病例。145例长骨干粉碎性骨折患者在内固定后随访6-15个月, 发现试验组骨折平均愈合时间为6.17个月, 未发生骨折不愈合; 而对照组骨折平均愈合时间为7.24个月, 骨折不愈合率为7%。试验组在内固定同时应用骨形态发生蛋白可明显促进骨折愈合, 缩短骨折愈合时间, 并能预防骨折不愈合, 且治疗中没有发现不良反应发生。

3.3 骨形态发生蛋白的经济评价 目前临床上应用的骨形态发生蛋白, 一般都是通过基因重组技术获得的, 因此费用较高。多项研究比较了骨形态发生蛋白和自体骨移植治疗骨不愈合所用的经费^[29-31], 发现用骨形态发生蛋白治疗骨折不愈合, 疗效与自体骨移植相近, 但所用经费多于自体骨移植, 不过多出的部分要少于骨形态发生蛋白本身的价格, 而且用骨形态发生蛋白可避免出现自体骨移植的并发症, 患者一般都能接受应用骨形态发生蛋白。本试验应用的含有重组人骨形态发生蛋白2的骨修复材料, 每盒约3500元, 根据粉碎性骨折的程度, 一般应用一至两盒, 虽然费用较高, 但疗效好, 能明显缩短骨折愈合时间, 预防骨折不愈合发生, 而且无不良反应, 值得在临床上推广应用。

致谢: 感谢武汉大学人民医院骨科李亚明主任及各位同仁在该项临床研究中给予的大力支持。

作者贡献: 试验设计者张弩, 试验实施者张弩、张春, 试验评估者刘世清, 资料收集者张春、张弩, 张弩成文、审校并对文章负责。

利益冲突: 文章及内容不涉及相关利益冲突。

伦理要求: 参与试验的患病个体及其家属自愿参加, 对治疗过程完全知情同意, 在充分了解治疗方案的前提下签署“知情同意书”; 干预及治疗方案获医院伦理委员会批准。

学术术语: 骨诱导-是指来自植床周边宿主结缔组织中的可诱导成骨前体细胞, 在诱导因子的作用下可被诱导定向产生骨原细胞, 经成骨细胞形成新骨。

作者声明: 文章为原创作品, 无抄袭剽窃, 无泄密及署名和专利争议, 内容及数据真实, 文责自负。

4 参考文献 References

- [1] Cantu RV, Koval GJ. The use of locking plates in fracture care. *J Am Acad Orthop Surg.* 2006;14(3):183-190.
- [2] Erden ER, Arda C, Mesut SM, et al. Augmentative locking compression plate fixation for the management of long bone nonunion after intramedullary nailing. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2012; 132(7):937-940.
- [3] Erden ER, Arda C, Mesut SM, et al. Implementation of locking compression plate together with intramedullary fibular graft in atrophic type humeral nonunions. *Eur J Orthop Surg Traumatol.* 2012;22(8):661-665.
- [4] Axelrad TW, Kakar S, Einhorn TA. New technologies for the enhancement of skeletal repair. *Injury.* 2007;38(Suppl) 1: S49-62.
- [5] Fong K, Truong V, Foote CJ, et al. Predictors of nonunion and reoperation in patients with fractures of the tibia: an observational study. *BMC Musculoskel Disord.* 2013; 14: 103-112.
- [6] Carofino BC, Lieberman JR. Gene therapy applications for fracture-healing. *J Bone Joint Surg (Am).* 2008; 90(Suppl 1): 99-110.
- [7] Virk MS, Lieberman JR. Biologic adjuvants for fracture healing. *Arth Res Ther.* 2012;14:225-237.
- [8] Chen D, Zhao M, Mundy GR. Bone morphogenetic proteins. *Growth Factors.* 2004;22:233-241.
- [9] Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA. The role of growth factors in the repair of bone. *Biology and clinical applications.* *J Bone Joint Surg (Am).* 2002;84:1032-1044.
- [10] Patterson TE, Kumagai K, Griffith L, et al. Cellular strategies for enhancement of fracture repair. *J Bone Joint Surg (Am)* 2008;90 (Suppl 1):111-119.
- [11] Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science* 1965; 150:893-899.
- [12] Govender S, Csimma C, Genant HK, et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 for treatment of open tibial fractures: a prospective, controlled, randomized study of four hundred and fifty patients. *J Bone Joint Surg (Am).* 2002; 84:2123-2134.
- [13] Jones AL, Bucholz RW, Bosse MJ, et al. Recombinant human BMP-2 and allograft compared with autogenous bone graft for reconstruction of diaphyseal tibial fractures with cortical defects. A randomized, controlled trial. *J Bone Joint Surg (Am).* 2006;88:1431-1441.
- [14] Friedlaender GE, Perry CR, Cole JD, et al. Osteogenic protein-1 (bone morphogenetic protein-7) in the treatment of tibial nonunions. *J Bone Joint Surg (Am).* 2001;83 (Suppl 1): S151-158.
- [15] Seeherman HJ, Li XJ, Bouxsein ML, et al. rhBMP-2 induces transient bone resorption followed by bone formation in a nonhuman primate core-defect model. *J Bone Joint Surg (Am).* 2010;92:411-426.
- [16] Carragee EJ, Hurwitz EL, Weiner BK. A critical review of recombinant human bone morphogenetic protein-2 trials in spinal surgery: emerging safety concerns and lessons learned. *Spine.* 2011;11:471-491.
- [17] 沈如杰,叶建新.含重组人骨形态发生蛋白2骨修复材料的体内成骨实验[J].中国组织工程研究与临床康复,2008,12(36): 7012-7016.
- [18] 叶建新,沈如杰.新型含重组人骨形态发生蛋白2骨修复材料的制备及生物学评价[J].中国组织工程研究与临床康复,2008,2(45): 8819-8822.
- [19] Volpin G, Shtarker H. Management of Delayed Union, Non-Union and Mal-Union of Long Bone Fractures. *Eur Surg Orthop Traumatol.* 2014; 241-266.
- [20] Niikura Y, Lee SY, Sakai Y, et al. Causative factors of fracture nonunion: the proportions of mechanical, biological, patient-dependent, and patient-independent factors. *J Orthop Sci.* 2014;19:120-124.
- [21] 蒋恒,徐国红.成人骨干骨折手术治疗后骨不愈合的预防[J].浙江创伤外科,2011,16(4):507-509.
- [22] 危伟浪.股骨干骨折不愈合的原因及相关因素分析[J].局解手术学杂志,2012,21(4):439-440.
- [23] 王庆生.股骨干骨折钢板内固定术后不愈合21例原因分析[J].中国医药导报,2008,5(32):143-144.
- [24] 常宇明.股骨干骨折钢板内固定术后不愈合的临床分析[J].中国现代药物应用,2008,2(9):93-94.
- [25] 武玉江,宋景仑.骨折钢板内固定不愈合影响因素分析[J].当代医学,2011,17(33):74-75.
- [26] 陈爽.胫骨中下段骨折内固定术后骨不愈合原因分析[J].医药论坛杂志,2009,30(1):33-34.
- [27] Kanakaris NK, Paliobeis C, Manidakis N, et al. Biological enhancement of tibial diaphyseal aseptic non-unions: the efficacy of autologous bone grafting, BMPs and reaming by-products. *Injury.* 2007;38(Suppl 2): 65-75.
- [28] Khan SN, Cammisa FP Jr, Sandhu HS, et al. The biology of bone grafting. *J Am Acad Orthop Surg.* 2005;13:77-86.
- [29] Dahabreh Z, Calori GM, Kanakaris NK, et al. A cost analysis of treatment of tibial fracture nonunion by bone grafting or bone morphogenetic protein-7. *Int Orthop.* 2009;(33): 1407-1414.
- [30] Dahabreh Z, Dimitriou R, Giannoudis PV. Health economics. a cost analysis of treatment of persistent fracture non-unions using bone morphogenetic protein-7. *Injury.* 2007;38:371-377.
- [31] Kanakaris NK, Giannoudis PV. The health economics of the treatment of long-bone non-unions. *Injury.* 2007;38(Suppl 2): 77-84.