

局部应用神经生长因子对周围神经损伤后骨折早期愈合的影响

赵重熙, 马 军, 何 宁, 陈兆辉(广元市中医院骨二科, 四川省广元市 628000)

文章亮点:

- 1 基于骨调节理论, 骨修复程序将难以有效实现, 因此伴有神经损伤的骨折发生后, 其骨愈合情况通常远不及单纯骨折。有关内分泌因子是否就是神经生长因子, 以及神经生长因子是如何影响骨折后骨愈合目前尚无定论。
- 2 实验旨在探讨可维持神经元存活及诱导交感神经纤维向靶组织生长的神经生长因子在伴有神经损伤的骨折愈合中的作用。结果提示周围神经损伤后的骨折局部应用神经生长因子均可增强成骨能力, 且可有效抑制破骨细胞活动, 促进骨折早期愈合。

关键词:

组织构建; 骨组织工程; 神经生长因子; 周围神经损伤; 骨折; 早期愈合;

主题词:

神经生长因子; 骨折; 骨折愈合

摘要

背景: 骨折愈合机制复杂, 受到多种因素的影响, 骨折延迟愈合、不愈合时有发生, 如何促进骨折愈合成为亟待解决的问题。

目的: 观察周围神经损伤后局部应用神经生长因子对骨折早期愈合的影响。

方法: 36 只健康雄性 Wistar 大白鼠建立胫骨骨折模型, 将其随机分为 4 组, 每组 18 个肢体。①骨折+盐水组为胫骨骨折予以双侧腓肠肌生理盐水注射。②骨折伴神经损伤+盐水组胫骨骨折伴神经损伤予以生理盐水注射。③骨折+神经生长因子组为胫骨骨折予以局部注射神经生长因子。④骨折伴神经损伤+神经生长因子组为神经损伤、胫骨骨折予以局部注射神经生长因子。对各组骨痂计量学结果等情况进行观察对比。

结果与结论: ①骨痂量: 干预 4 周时与骨折+盐水组、骨折+神经生长因子组、骨折伴神经损伤+神经生长因子组比较, 骨折伴神经损伤+盐水组骨痂量最多, 其他 3 组比较差异无显著性意义($P > 0.05$)。②骨计量指标: 干预 2 周时, 骨折伴神经损伤+盐水组骨吸收表面积明显大于骨折伴神经损伤+神经生长因子组($P < 0.05$), 骨折+盐水组破骨细胞指数明显大于骨折+神经生长因子组($P < 0.05$); 干预 4 周时, 矿化骨小梁宽度, 骨折+盐水组明显小于骨折+神经生长因子组($P < 0.05$), 骨折伴神经损伤+盐水组明显小于骨折伴神经损伤+神经生长因子组($P < 0.05$)。结果提示周围神经损伤后的骨折局部应用神经生长因子均可增强成骨能力, 且可有效抑制破骨细胞活动, 促进骨折早期愈合。

赵重熙, 马军, 何宁, 陈兆辉. 局部应用神经生长因子对周围神经损伤后骨折早期愈合的影响[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(15):2320-2324.

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2015.15.005

Topical application of nerve growth factor in early fracture healing after peripheral nerve injury

Zhao Chong-xi, Ma Jun, He Ning, Chen Zhao-hui (Second Department of Orthopedics, Guangyuan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangyuan 628000, Sichuan Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Fracture healing mechanism is complex and affected by many factors, and delayed fracture healing or nonunion often occurs. How to promote fracture healing has become a serious problem.

OBJECTIVE: To observe the effect of local application of nerve growth factor on early fracture healing after peripheral nerve injury.

METHODS: Thirty-six healthy male Wistar rats were selected to establish tibial fracture models, which were randomly divided into four groups, with 18 limbs in each group. Group A: tibial fracture+normal saline injection via bilateral gastrocnemius muscles; group B: tibial fracture+nerve injury+normal saline injection; group C: tibial fracture+local injection of nerve growth factor; group D: tibial fracture+nerve injury+local injection of nerve growth factor. Callus metrology results were compared among different groups.

RESULTS AND CONCLUSION: The callus volume was the most in the group B at 4 weeks of intervention, but there were no different among the other three groups ($P > 0.05$). At 2 weeks of intervention, the bone resorption area was significantly larger in the group B than the group D ($P < 0.05$), and the osteoclast index was significantly higher in the group A than the group C ($P < 0.05$); while at 4 weeks of intervention, the mineralized bone

赵重熙, 男, 1964 年生, 陕西省商州市人, 汉族, 1995 年成都中医药大学毕业, 副主任医师, 副教授, 主要从事骨科临床及相关研究。

中图分类号:R318

文献标识码:A

文章编号:2095-4344

(2015)15-02320-05

稿件接受: 2015-03-13

http://www.crter.org

Zhao Chong-xi, Associate chief physician, Associate professor, Second Department of Orthopedics, Guangyuan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangyuan 628000, Sichuan Province, China

Accepted: 2015-03-13

trabecular width was significantly lower in the group A than the group C ($P < 0.05$) as well as lower in the group C than the group D ($P < 0.05$). These findings indicate that after peripheral nerve injury, local application of nerve growth factor can enhance the osteogenic ability, effectively inhibit osteoclast activity, and promote the early healing of fracture.

Subject headings: Nerve Growth Factor; Fractures, Bone; Fracture Healing

Zhao CX, Ma J, He N, Chen ZH. Topical application of nerve growth factor in early fracture healing after peripheral nerve injury. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2015;19(15):2320-2324.

0 引言 Introduction

骨折是临床常见病和多发病, 随着交通工具的不断普及, 交通事故造成的骨折越来越常见, 骨折类型和严重程度越来越复杂。骨折愈合机制非常复杂, 涉及到生物力学、细胞生物学、内分泌学等多种学科^[1]。目前, 研究主要集中在3个方面: 一是分子生物学研究如成纤维细胞生长因子、血小板衍生生长因子、血管内皮生长因子; 二是物理学研究如超声波、电磁场等对骨折愈合的影响; 三是组织工程的研究如人工材料替代治疗等^[2]。尽管目前骨折治疗研究取得了很大进展, 但由于骨折愈合受到个体差异、骨折类型、骨折严重程度、治疗水平等多种因素影响, 骨折延迟愈合和不愈合在临床上时有发生, 延长患者住院时间, 增加患者医疗费用, 给患者及其家庭带来严重的精神压力和经济负担。如何促进骨折愈合, 成为骨科医生亟需解决的问题。近年文献报道, 骨折合并脑损伤的患者骨痂生长速度快、数量多, 骨折愈合时间明显短于未合并有颅脑损伤的患者^[3-4]。因此, 神经生长因子对骨折可能存在一定的影响。

神经生长因子属于生物活性复合蛋白, 其具有促进细胞生长的作用, 在调节中枢及外周神经元的生长及发育等过程中具有重要作用^[5]。近年来医学界开始广泛关注神经因素对于骨生长的影响, 并已形成了“神经-内分泌-骨”的轴线调节理论, 当周围神经损伤之后, 有关内分泌因子的水平及活性将受到严重影响^[6]。基于上述骨调节理论, 骨修复程序将难以有效实现, 因此伴有神经损伤的骨折发生后, 其骨愈合情况通常远不及单纯骨折。但有关内分泌因子是否就是神经生长因子, 以及神经生长因子是如何影响骨折后骨愈合目前尚无定论。

为探讨可维持神经元存活及诱导交感神经纤维向靶组织生长的神经生长因子在伴有神经损伤的骨折愈合中的作用, 实验采用了36只健康雄性Wistar大白鼠作为研究对象, 并尝试制作了周围神经损伤的骨缺损模型, 对其采用局部应用神经生长因子对骨折早期愈合的修复效果进行了观察讨论, 分析神经生长因子对骨折愈合促进作用, 通过建立大白鼠骨折模型, 为神经生长因子与骨折愈合的相关性提供实验基础, 旨在为骨折治疗提供参考, 为治疗骨折提供新的方法与思路。

1 材料和方法 Materials and methods

设计: 随机、双盲、对照动物实验。

时间及地点: 实验于2013年12月至2014年2月在广元市中医院骨二科完成。

材料: 选取健康雄性Wistar大白鼠36只, 体质量为(219.5±20.3) g, 大白鼠来源: 中国医科大学实验动物中心繁殖饲养的3月龄封闭群大白鼠(以下简称大白鼠), 为一级(普通级)合格实验动物, 许可证号: 辽实条合字1号。将36只大鼠随机分为4组, 每组18个肢体。

实验过程中全部按照《关于善待实验动物的指导性意见》的要求对动物进行处置^[3]。

注射用鼠神经生长因子: 商品名丽康乐, 30 μg/瓶, 珠海市丽珠集团丽珠制药厂生产(批准文号: 国药准字s20100005)。

实验方法:

建立胫骨骨折模型及神经损伤模型: 大鼠建立胫骨骨折模型, 并随机切断一侧坐骨神经。首先进行腹腔内注射麻醉, 麻醉使用氯胺酮, 使用剂量为100 mg/kg, 麻醉之后取仰卧位, 对双胫骨中点处周径进行测量, 测量之后对术区进行消毒。于胫骨上段前侧部位, 做楔形开槽, 开槽的深度和宽度分别为3 mm和2 mm。建立神经损伤模型, 取俯卧位, 于大鼠的股外两侧腹股沟韧带水平部位, 对股神经进行切除, 切除长度为10 mm左右; 对侧做切口暴露, 注意不做对侧神经切除, 采用相同的方法进行胫骨开槽。

动物分组:

组别	处理
骨折+盐水组	胫骨骨折予以生理盐水注射
骨折伴神经损伤+盐水组	胫骨骨折伴神经损伤予以生理盐水注射;
骨折+神经生长因子组	胫骨骨折予以局部注射神经生长因子
骨折伴神经损伤+神经生长因子组	胫骨骨折伴神经损伤予以局部注射神经生长因子

术后对骨折+盐水组与骨折伴神经损伤+盐水组注射生理盐水, 注射方式为肌注, 注射部位为双侧腓肠肌, 每肢体注射的剂量为每日0.1 mL。骨折+神经生长因子组与骨折伴神经损伤+神经生长因子组则注射神经生长因子, 注射方法与部位同上, 每肢体的注射剂量为每日0.1 mL, 或者为每日0.2 U。

指标检测: 使用X射线、CT进行测量, 操作按照说明书进行。于干预2, 4周分别于各组取9肢体, 对各期骨痂量(X射线测量3次, 取平均值)、胫骨标本骨计量学结果进行观察和对比。

表2 胫骨骨折大鼠不同方法干预2, 4周时胫骨标本骨计量学结果

($\bar{x} \pm s$, $n=9$)

Table 2 Metrological results of the tibial specimens at 2 and 4 weeks of different interventions

项目	2周				4周			
	骨折+盐水组	骨折伴神经损伤+盐水组	骨折+神经生长因子组	骨折伴神经损伤+神经生长因子组	骨折+盐水组	骨折伴神经损伤+盐水组	骨折+神经生长因子组	骨折伴神经损伤+神经生长因子组
矿化骨小梁宽度(μm)	45.92 \pm 7.81	33.02 \pm 4.60	50.51 \pm 7.33	36.29 \pm 5.19	69.10 \pm 15.06	50.22 \pm 7.07	81.96 \pm 19.12 ^a	89.61 \pm 12.89 ^b
类骨质宽度(μm)	8.26 \pm 5.16	8.59 \pm 1.17	8.35 \pm 2.02	8.59 \pm 1.14	11.39 \pm 2.80	17.06 \pm 3.74	9.75 \pm 1.46	14.13 \pm 2.86
骨形成表面面积(%)	37.24 \pm 5.16	32.89 \pm 4.61	39.20 \pm 5.34	34.03 \pm 6.78	45.91 \pm 5.66	50.13 \pm 9.76	51.66 \pm 4.85	48.31 \pm 4.26
骨吸收表面积(%)	8.12 \pm 2.75	23.44 \pm 6.86	6.33 \pm 2.66	14.03 \pm 7.56 ^b	4.02 \pm 2.56	12.13 \pm 3.85	3.92 \pm 1.29	8.22 \pm 2.65
成骨细胞指数(mm^2)	455.25 \pm 37.76	472.31 \pm 51.68	475.06 \pm 0.51	480.13 \pm 58.20	338.55 \pm 50.93	345.55 \pm 50.52	327.50 \pm 45.08	352.25 \pm 52.07
破骨细胞指数(mm^2)	21.45 \pm 7.31	40.33 \pm 14.91	12.47 \pm 5.76a	32.96 \pm 12.02	8.86 \pm 1.85	13.92 \pm 3.65	7.26 \pm 1.63	11.13 \pm 2.06

表注: 与骨折+盐水组比较, $t=4.094$, $t=2.242$, ^a $P < 0.05$; 与骨折伴神经损伤+盐水组相比较, $t=3.911$, $t=11.367$, ^b $P < 0.05$ 。

表1 胫骨骨折大鼠不同方法干预2, 4周骨痂量对比情况

($\bar{x} \pm s$, $n=9$, mm)

Table 1 The callus volume of rats with tibial fractures at 2 and 4 weeks of different interventions

时间	骨折+盐水组	骨折伴神经损伤+盐水组	骨折+神经生长因子组	骨折伴神经损伤+神经生长因子组
干预期前	3.09 \pm 0.11	3.01 \pm 0.12	3.02 \pm 0.16	3.08 \pm 0.13
干预2周	1.31 \pm 0.12	1.51 \pm 0.16	1.30 \pm 0.13	1.39 \pm 0.13
干预4周	3.68 \pm 0.46 ^a	4.16 \pm 0.51	3.28 \pm 0.42 ^a	3.77 \pm 0.41 ^a

表注: 干预4周时骨折伴神经损伤+盐水组骨痂量最多, 与骨折伴神经损伤+盐水组比较, ^a $P < 0.05$ (骨折+盐水组 $t=3.126$, 骨折+神经生长因子组 $t=5.957$, 骨折伴神经损伤+神经生长因子组 $t=2.665$)。

主要观察指标: ①各组各期骨痂量对比情况。②各组干预2周时胫骨标本骨计量学情况。

统计学分析: 数据经SPSS 18.0统计学软件处理, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计量资料经 t 检验, 数据对比以 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 实验选用大鼠36只, 分为4组, 实验过程无脱失, 全部进入结果分析。

2.2 各组各期骨痂量对比情况 干预前4组骨实质量差异无显著性意义($P > 0.05$)。干预2周时4组均有骨痂生长, 4组骨痂量指标差异无显著性意义($P > 0.05$); 干预4周时与骨折+盐水组、骨折+神经生长因子组、骨折伴神经损伤+神经生长因子组相较骨折伴神经损伤+盐水组骨痂量最多, 骨折+盐水组、骨折+神经生长因子组、骨折伴神经损伤+神经生长因子组组间相较, 骨痂量差异无显著性意义($P > 0.05$)。见表1。

2.3 各组干预2周时胫骨标本骨计量学情况 干预2周时, 4组矿化骨小梁宽度、类骨质宽度、骨形成表面面积及成骨细胞指数4项指标比较差异无显著性意义($P > 0.05$); 骨吸收表面积, 骨折伴神经损伤+盐水组指标明显大于骨折伴神经损伤+神经生长因子组($P < 0.05$), 其他各组间比较差异均无显著性意义($P > 0.05$); 破骨细胞指数, 骨折+盐水组

指标明显大于骨折+神经生长因子组($P < 0.05$), 其他各组间比较差异均无显著性意义($P > 0.05$)。见表2。

干预4周时, 4组类骨质宽度、骨形成表面面积、骨吸收表面积、成骨细胞指数及破骨细胞指数5项指标比较差异无显著性意义($P > 0.05$); 4组矿化骨小梁宽度比较差异有显著性意义($P < 0.05$)。矿化骨小梁宽度, 骨折+盐水组指标明显小于骨折+神经生长因子组($P < 0.05$), 骨折伴神经损伤+盐水组指标明显小于骨折伴神经损伤+神经生长因子组($P < 0.05$), 其他各组间比较差异均无显著性意义($P > 0.05$)。见表2。

3 讨论 Discussion

神经生长因子属于多功能因子, 在人体内主要分布于脑、神经节、心脏、脾等组织及成纤维细胞、骨骼肌、胶质细胞等。近年研究报道, 神经生长因子在不同部位的骨组织中分布不同。张贵春等^[7]研究报道, 伴有或不伴有神经损伤的骨折, 局部注射神经生长因子都可抑制骨细胞活动, 促进成骨能力增强, 促进愈合。刘宇鹏等^[8]研究结果也显示, 神经生长因子能促进骨折愈合过程中血管内皮细胞因子的生成, 促进骨折愈合。刘振纲等^[9]通过实验发现神经生长因子对失神经状态下骨折断端的骨化有促进作用。骨折周围肌肉等软组织, 均与骨折端血供具有密切相关性, 其也可对骨折端代谢起到重要作用^[10-15]。正常情况下骨骼肌受神经系统的抑制性调节, 在周围神经损伤后骨骼肌肉由于失去神经营养作用, 进而导致无法维持肌细胞的正常形态结构, 最终造成失用萎缩^[16-18]。肌细胞萎缩直接影响了骨折端血液供应, 致使其正常代谢机制无法实现, 从而进一步加重了骨折后骨损伤^[19-20]。

本组研究显示, 在干预2, 4周时, 大鼠周围神经损伤侧的骨痂量有明显变化, 骨折伴神经损伤+盐水组与其余各组相较其骨痂量明显更高。说明失去神经支配鼠胫骨骨折形成骨痂量较有神经支配的更大。与刘宇鹏等^[8]报道相符。刘宇鹏等指出无神经支配的但在形成骨痂的35 d之后, 局部骨质的生物力学强度明显减低, 与正常胫骨相较仅为正常者的1/5左右, 具有神经支配组的胫骨骨痂相对较少, 在

35 d之后其生物力学强度明显高于无神经支配组, 与正常胫骨相较可达到正常者1/2左右。另外, 尽管骨折伴神经损伤+神经生长因子组大鼠亦切断了支配神经, 但是其由于应用神经生长因子, 其形成的骨痂量也明显小于骨折伴神经损伤+盐水组大鼠, 且与有神经支配的骨折+盐水组和骨折+神经生长因子组相仿。说明经局部应用神经生长因子之后, 可使大鼠神经功能发生改变, 经注射达到损伤部位均可获得一定治疗效果, 其机制可能为神经生长因子于骨骼肌中存在表达, 可促进运动神经元对神经营养物质合成且可促进骨骼肌钙泵活性恢复^[21-24]。

在干预4周时, 骨折+神经生长因子组较骨折+盐水组的骨小梁宽度明显增宽, 说明骨折+神经生长因子组最早完成骨构建, 提示神经因子无论是骨源性或者是外源性均可促进骨重建, 对于骨折患者引入外源性神经生长因子治疗可促使骨折愈合。进一步研究对周围神经损伤后的骨折伴神经损伤+神经生长因子组大鼠局部应用神经生长因子治疗之后的各项指标, 发现骨折伴神经损伤+神经生长因子组的骨痂量、实质量与正常骨折者相较均无明显差异, 同为神经损伤而骨折伴神经损伤+神经生长因子组与骨折伴神经损伤+盐水组相较前者抑制破骨细胞的作用更佳。说明伴神经损伤骨折后局部应用神经生长因子(骨折伴神经损伤+神经生长因子组)能够恢复“神经-内分泌-骨”的轴线调节路径^[25-29], 促进骨愈合, 其效果明显优于未局部应用神经生长因子(骨折伴神经损伤+盐水组)。另一方面提示骨痂量并不能完全代表骨强度, 骨折伴神经损伤+神经生长因子组与骨折伴神经损伤+盐水组相较骨折伴神经损伤+神经生长因子组骨痂量明显少, 一定程度上亦说明周围神经损伤之后局部应用神经生长因子, 可有效减少由于神经损伤后破骨细胞活性增强所导致的骨痂量增殖, 神经生长因子不仅可使成骨能力增强, 并且具有有效抑制破骨细胞活动及促进骨痂成熟的作用^[30-35]。

本研究主要通过大鼠骨折模型进行实验, 大鼠胫骨骨折愈合的生理过程与人体基本相似。但是由于大鼠胫骨比较细, 骨折间隙一般较小, 通常不超过1 mm, 不利于动态观察骨折愈合过程中的组织学和影像学变化^[17]。研究结果推测, 神经生长因子促进周围神经损伤骨折早期愈合可能是通过以下机制: ①调节骨折愈合过程的炎症反应。②诱导神经纤维生长, 增加骨折局部血流供应^[36-37]。③对影响骨折愈合的相关基因进行调节^[38-39]。根据本实验研究结果及相关文献报道, 神经生长因子对人体骨折愈合可能有较好的治疗效果, 为骨折不易愈合的部位如股骨颈、舟骨、胫骨中下段等骨折治疗提供了新的治疗方法和思路^[40]。由动物实验结果外推至人体仍需要进行大量实验论证, 由于本研究的实验样本量比较少, 因此实验结果仍需加大样本量研究。

综上所述, 在周围神经损伤后局部应用神经生长因子可有效促进骨折愈合, 具有重要意义。可能与正常骨组织

与骨痂中存在神经生长因子与其受体的表达有关, 需进一步深入研究。

作者贡献: 赵重熙、马军、何宁、陈兆辉等对此文所作贡献均等, 本研究由赵重熙设计, 研究过程由马军、何宁操作完成, 陈兆辉负责评估, 数据分析由赵重熙完成, 本论文写作由赵重熙、马军、何宁、陈兆辉等完成, 实验经过双盲评估。

利益冲突: 文章及内容不涉及相关利益冲突。

伦理要求: 没有与相关伦理道德冲突的内容。

学术术语: 神经生长因子-是指具有神经元营养和促突起生长双重生物学功能的一种神经细胞生长调节因子, 它对中枢及周围神经元的发育、分化、生长、再生和功能特性的表达均具有重要的调控作用。

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] 粟谋, 徐威, 蒋林彬, 等. 影响神经生长因子表达因素的研究进展[J]. 重庆医学, 2014, 56(7): 735-737.
- [2] 高旭鹏, 林师佈. 免疫抑制剂联合神经生长因子促周围神经损伤修复研究[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2014, 8(6): 21-25.
- [3] 何畔, 常磊, 王愉思. 糖尿病兔骨折愈合过程中神经生长因子及血小板衍生生长因子-A的表达[J]. 广东医学, 2014, 35(19): 2999-3001.
- [4] Shi G, Shi J, Liu K, et al. Increased miR-195 aggravates neuropathic pain by inhibiting autophagy following peripheral nerve injury[J]. Glia, 2013, 61(4): 504-512.
- [5] 郑怀远, 洪光祥, 刘娟, 等. 前臂背侧皮神经移植修复骨间背侧神经运动支的临床疗效[J]. 中华显微外科杂志, 2012, 35(6): 499-501.
- [6] 程津津, 任萍萍. 学习《关于善待实验动物的指导性意见》后的体会[J]. 实验动物科学, 2011, 28(3): 78-79.
- [7] 张贵春, 张永先. 神经生长因子对合并神经损伤胫骨骨折早期愈合的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(11): 2057-2061.
- [8] 刘宇鹏, 赵德伟, 王卫明, 等. 神经生长因子可促进骨折愈合过程中血管内皮生长因子的表达[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(24): 3863-3869.
- [9] 刘振刚, 刘宇鹏, 李放, 等. 神经生长因子在骨折愈合中的作用[J]. 中国医药指南, 2013, 11(11): 491-492.
- [10] 刘爽, 李善昌, 刘占领, 等. 骨折愈合过程中骨形态发生蛋白与细胞外基质磷酸糖蛋白表达的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(2): 356-358.
- [11] 袁亮, 林振, 付兆宗, 等. 信号选择性甲状腺素模拟肽促进去势雄性小鼠的骨折愈合[J]. 南方医科大学学报, 2013, 33(2): 182-187.
- [12] 李西华, 赵蕾, 吴燕, 等. 神经源性一氧化氮合酶对临床疑似Becker型肌营养不良的诊断意义[J]. 中国当代儿科杂志, 2011, 13(4): 288-291.
- [13] 曹玲, 杨光. 增龄与骨骼肌细胞的退变[J]. 中国老年学杂志, 2014, (10): 2893-2896.
- [14] 李东海, 周安宁. 周围神经损伤后局部应用神经生长因子对骨折早期愈合的影响[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2014, 17(22): 68-69.
- [15] 贾考田. 神经生长因子对84例骨折患者愈合情况的临床观察[J]. 北方药学, 2013, (5): 90.
- [16] 张冉, 孙宏志. 神经生长因子在合并颅脑损伤的股骨干骨折修复中的意义[J]. 中华神经医学杂志, 2010, 09(12): 1265-1267.

- [17] 王立明,张伟,陈坤,等.神经生长因子及其受体在下颌骨折愈合中的表达及意义[J]. 实用口腔医学杂志, 2011,27(4): 460-464.
- [18] 朱生根,苏利强,徐明.神经生长因子与被动运动对失神经大鼠骨代谢指标的影响[J]. 中国骨质疏松杂志,2014,20(6):606-609.
- [19] 刘诚.外源性神经生长因子与骨折愈合的相关性分析[D].长江大学,2012.
- [20] Cao J, Wang L, Lei DL, et al. Local injection of nerve growth factor via a hydrogel enhances bone formation during mandibular distraction osteogenesis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2012;113(1):48-53.
- [21] Diniz BS, Teixeira AL, Talib L, et al. Interleukin-1 beta serum levels is increased in antidepressant-free elderly depressed patients. *Am J Geriatr Psychiatry.* 2010; 18:172-176.
- [22] Wong AW, K P Yeung J, Payne SC, et al. Neurite outgrowth in normal and injured primary sensory neurons reveals different regulation by nerve growth factor (NGF) and artemin. *Mol Cell Neurosci.* 2015;65:125-134.
- [23] Omae T, Nakamura J, Ohtori S, et al. A novel rat model of hip pain by intra-articular injection of nerve growth factor-characteristics of sensory innervation and inflammatory arthritis. *Mod Rheumatol.* 2015; 4:1-19.
- [24] Barker JS1, Wu Z, Hunter DD, et al. Ozone Exposure Initiates a Sequential Signaling Cascade in Airways Involving Interleukin-1Beta Release, Nerve Growth Factor Secretion, and Substance P Upregulation. *J Toxicol Environ Health A.* 2015;78(6):397-407.
- [25] Chen Q, Wang H, Liao S, et al. Nerve growth factor protects retinal ganglion cells against injury induced by retinal ischemia-reperfusion in rats. *Growth Factors.* 2015; 24:1-11.
- [26] Zheng LR, Zhang YY, Han J, et al. Nerve growth factor rescues diabetic mice heart after ischemia/reperfusion injury via up-regulation of the TRPV1 receptor. *J Diabetes Complications.* 2015;29(3):323-328
- [27] Badowska-Szalewska E, Krawczyk R, Ludkiewicz B, et al. The effect of mild stress stimulation on the nerve growth factor (NGF) and tyrosine kinase receptor A (TrkA) immunoreactivity in the paraventricular nucleus (PVN) of the hypothalamus and hippocampus in aged vs. adult rats. *Neuroscience.* 2015;290:346-356.
- [28] Hui L, Yuan J, Ren Z, et al. Nerve growth factor reduces apoptotic cell death in rat facial motor neurons after facial nerve injury. *Neurosciences (Riyadh).* 2015;20(1):65-68.
- [29] Chae CH, Jung SL, An SH, et al. Swimming exercise stimulates neuro-genesis in the subventricular zone via increase in synapsin I and nerve growth factor levels. *Biol Sport.* 2014;31(4):309-314.
- [30] Su Y, Dong X, Liu J, et al. Nerve growth factor for Bell's palsy: A meta-analysis. *Exp Ther Med.* 2015;9(2):501-506.
- [31] Li J, Xing J, Lu J. Nerve Growth Factor, Muscle Afferent Receptors and Autonomic Responsiveness with Femoral Artery Occlusion. *J Mod Physiol Res.* 2014;1(1):1-18.
- [32] Da Silva JT, Santos FM, Giardini AC, et al. Neural mobilization promotes nerve regeneration by nerve growth factor and myelin protein zero increased after sciatic nerve injury. *Growth Factors.* 2015;33(1):8-13. 9.
- [33] Paoletti F, Malerba F, Bruni Ercole B, et al. A comparative analysis of the structural, functional and biological differences between Mouse and Human Nerve Growth Factor. *Biochim Biophys Acta.* 2015;1854(3):187-197.
- [34] Blaney Davidson EN, van Caam AP, Vitters EL, et al. TGF- β is a potent inducer of Nerve Growth Factor in articular cartilage via the ALK5-Smad2/3 pathway. Potential role in OA related pain? *Osteoarthritis Cartilage.* 2015;23(3):478-486.
- [35] Ma SZ, Peng CL, Wu SQ, et al. Sciatic nerve regeneration using a nerve growth factor-containing fibrin glue membrane. *Neural Regen Res.* 2013;8(36): 3416-3422
- [36] Huang S, Zhang X, Xu L, et al. Expression of nerve growth factor in the prostate of male rats in response to chronic stress and sympathetic denervation. *Exp Ther Med.* 2014; 8(4):1237-1240.
- [37] Wilson JL, Chen W, Dissen GA, et al. Excess of nerve growth factor in the ovary causes a polycystic ovary-like syndrome in mice, which closely resembles both reproductive and metabolic aspects of the human syndrome. *Endocrinology.* 2014;155(11):4494-4506.
- [38] Tomellini E, Touil Y, Lagadec C, et al. Nerve growth factor and proNGF simultaneously promote symmetric self-renewal, quiescence, and epithelial to mesenchymal transition to enlarge the breast cancer stem cell compartment. *Stem Cells.* 2015;33(2):342-353.
- [39] Qin Q, Wang Z, Pan P, et al. Lung dendritic cells undergo maturation and polarization towards a T helper type 2-stimulating phenotype in a mouse model of asthma: Role of nerve growth factor. *Exp Ther Med.* 2014;8(5):1402-1408.
- [40] Kao TH, Peng YJ, Tsou HK, et al. Nerve growth factor promotes expression of novel genes in intervertebral disc cells that regulate tissue degradation: Laboratory investigation. *J Neurosurg Spine.* 2014;21(4):653-661.