

# 骨折合并脊髓损伤患者血清中转化生长因子β1变化：有利于促进骨折愈合

杨森, 王海龙, 盛伟斌, 徐韬, 郭海龙(新疆医科大学第一附属医院脊柱外科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054)

## 文章亮点:

文章纳入骨折合并脊髓损伤及骨折无脊髓损伤病例, 收集受伤后不同时间段外周血, 并运用酶联免疫吸附试验, 检测骨折后患者不同时间的血清中转化生长因子β1水平, 并根据两组对比以及转化生长因子水平变化趋势, 推测脊髓损伤合并骨折患者与单纯骨折无脊髓损伤的骨折愈合是否相同, 是否能够加快愈合。

## 关键词:

组织构建; 骨组织工程; 转化生长因子β1; 细胞因子; 骨折; 骨折愈合; 脊髓损伤; 酶联免疫吸附法; 差异; 变化趋势; 水平; 新疆维吾尔自治区自然科学基金

## 主题词:

组织工程; 骨折; 骨折愈合; 脊髓损伤

## 基金资助:

新疆维吾尔自治区自然科学基金(2012211A078)

## 摘要

**背景:** 研究表明, 转化生长因子β1在单纯骨折愈合中可发挥重要作用, 但在脊髓损伤合并骨折中, 转化生长因子β1如何促进骨折愈合未见报道。

**目的:** 观察骨折合并脊髓损伤患者的血清中转化生长因子β1水平变化, 探讨转化生长因子β1在骨折合并脊髓损伤中的作用机制。

**方法:** 收集新疆医科大学第一附属医院脊柱外科及创伤外科从2012年5月至2014年3月间的住院患者28例, 并根据是否合并脊髓损伤分为2组, 骨折合并脊髓损伤组患者12例、骨折无脊髓损伤组患者16例。分别于伤后第2, 7, 14, 28天空腹时采外周静脉血, 并采用酶联免疫法对血清转化生长因子β1质量浓度进行检测。

**结果与结论:** 纳入的28例患者中, 在损伤第2天, 骨折合并脊髓损伤组与骨折无脊髓损伤组血清转化生长因子β1水平差异无显著性意义( $P > 0.05$ ), 在第7, 14, 28天, 骨折合并脊髓损伤组比骨折无脊髓损伤组血清转化生长因子β1水平低( $P < 0.05$ )。在骨折合并脊髓损伤组中, 血清转化生长因子β1水平从第7天快速升高, 至第14天达到高峰, 第28天仍然无显著下降。在骨折无脊髓损伤组, 第2天升高, 第7天升高幅度达到最大, 至第28天, 升高幅度下降。骨折合并脊髓损伤组血清中转化生长因子β1可发生显著变化, 可能与转化生长因子β1在不同时期参与骨折愈合及脊髓损伤修复有关。

杨森, 王海龙, 盛伟斌, 徐韬, 郭海龙. 骨折合并脊髓损伤患者血清中转化生长因子β1变化: 有利于促进骨折愈合[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(2):165-169.

## Serum transforming growth factor beta 1 contributes to bone healing in patients with bone fractures combined with spinal cord injuries

Yang Sen, Wang Hai-long, Sheng Wei-bin, Xu Tao, Guo Hai-long (Department of Spinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China)

## Abstract

**BACKGROUND:** Studies have shown that transforming growth factor beta 1 plays an important role in the healing of fractures, but in spinal cord injury combined with fracture, transforming growth factor beta 1 has been never reported how to promote fracture healing.

**OBJECTIVE:** To observe the changes of serum transforming growth factor beta 1 levels in patients with spinal cord injury combined with bone fractures and to discuss the mechanism of transforming growth factor beta 1 in fracture healing after spinal cord injury with bone fractures.

**METHODS:** Totally 28 patients admitted at the Department of Spinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University from May 2012 to March 2014 were collected and divided into two groups according to whether they suffered from spinal cord injury: fracture+spinal cord injury group ( $n=12$ ) and simple fracture group ( $n=16$ ). Fasting peripheral blood samples were collected from patients in the two groups at 2, 7, 14, 28 days after injury, and ELISA method was used to detect the level of serum transforming growth factor beta 1.

**RESULTS AND CONCLUSION:** There was no significant difference in the level of serum transforming growth factor beta 1 between the two groups at 2 days after injury ( $P > 0.05$ ), but the levels of serum transforming growth factor beta 1 in the fracture+spinal cord injury group were lower than those in the simple fracture group at 7, 14,

杨森, 男, 1986年生, 河南省唐河县人, 汉族, 新疆医科大学在读硕士, 主要从事脊柱外科研究。

通讯作者: 郭海龙, 硕士生导师, 主任医师, 副教授, 硕士生导师, 新疆医科大学第一附属医院脊柱外科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.

2015.02.001

[http://www.crter.org]

中图分类号:R318

文献标识码:A

文章编号:2095-4344

(2015)02-00165-05

稿件接受: 2014-12-24

Yang Sen, Studying for master's degree, Department of Spinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Corresponding author: Guo Hai-long, Master, Chief physician, Associate professor, Master's supervisor, Department of Spinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Accepted: 2014-12-24

28 days after injury ( $P < 0.05$ ). In the fracture+spinal cord injury group, the level of serum transforming growth factor beta 1 had a rapid increase on the 7<sup>th</sup> day, and reached the peak on the 14<sup>th</sup> day, and then, this level had no significant decrease until the 28<sup>th</sup> day. In the simple fracture group, the level of serum transforming growth factor beta 1 began to increase on the 2<sup>nd</sup> day, reached the peak on the 7<sup>th</sup> day, and then decreased gradually. Remarkable changes of serum transforming growth factor beta 1 levels in patients with bone fracture combined with spinal cord injury may be associated with fracture healing in different periods.

**Subject headings:** Tissue Engineering; Fractures, Bone; Fracture Healing; Spinal Cord Injuries

**Funding:** the Natural Science Foundation of Xinjing Uygur Autonomous Region, No. 2012211A078

Yang S, Wang HL, Sheng WB, Xu T, Guo HL. Serum transforming growth factor beta 1 contributes to bone healing in patients with bone fractures combined with spinal cord injuries. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2015;19(2): 165-169.

## 0 引言 Introduction

骨折愈合是一个复杂的生理过程, 骨折愈合的过程与其他部位的组织再生是不相同的, 它需要重建骨折处的组织结构, 使其恢复原有的生物学特征和功能, 这一过程有部分类似于胚胎发育中的骨生成阶段<sup>[1]</sup>, 骨组织损伤后, 可通过再生达到组织形态和生理功能的完全恢复。

早期骨折愈合机制的研究主要为细胞生物学研究, 其根据细胞形态学特征, 将骨折愈合分为血肿形成及肉芽组织修复期、原始骨痂形成期、成熟骨板期和骨重建与塑形期4期。

随着分子生物学技术的发展, 对骨折愈合机制的研究已从细胞水平发展到分子水平, 特别是生长因子及其受体的发现, 骨折愈合机制的研究也进入分子水平。研究表明: 骨折发生后短期内局部组织即已释放多种生长因子, 至修复后期, 骨与软骨细胞仍产生多种生长因子, 这些生长因子相互作用, 共同促进骨折愈合。所以, 从分子水平上探讨骨折愈合的机制, 已成为骨折愈合现代研究的重要内容。如何缩短骨折愈合时间、减少骨折并发症, 防止骨折延迟愈合及骨不连一直是骨科领域长期困扰人们的一个难题。现已发现诸多促进骨愈合的物质, 其中多种生长因子如胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)、转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ )、血管内皮细胞生长因子(vascular endothelium growth factor, VEGF)、骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMP)在骨折愈合当中起着重要的作用<sup>[3]</sup>。研究已经证明, 局部应用血管内皮细胞生长因子、甲状旁腺激素、转化生长因子 $\beta$ 、胰岛素样生长因子和骨形态发生蛋白等均具有骨诱导作用的重组蛋白, 可以不同程度促进骨创伤的愈合<sup>[2-5]</sup>。

转化生长因子 $\beta$ 有多种异构体, 参与骨折愈合的全过程。迄今为止的主要发现包括: ①在骨折修复的不同时期, 骨折端血肿及血清转化生长因子 $\beta$ 均有较高的表达<sup>[6]</sup>。②转化生长因子 $\beta$ 具有促血管生长活性, 能诱导软骨生长板内血管的形成, 加速成骨进程<sup>[7]</sup>。③转化生长因子 $\beta$ 联合脱钙骨基质移植利于犬类骨骼早期修复<sup>[8]</sup>。④体外实验表明, 慢性脊髓损伤时成骨细胞骨形态发生蛋白/转化生长因子通路下调<sup>[9]</sup>, 而外源性转化生长因子 $\beta$ 诱导间质细胞增殖分

化, 形成骨细胞和软骨细胞<sup>[10]</sup>。同时, 脊髓损伤后常伴有骨组织及软骨组织内转化生长因子 $\beta$ 高表达<sup>[11]</sup>, 且转化生长因子 $\beta$ 可能在脊髓损伤机制中起到重要作用<sup>[12]</sup>, 抑制转化生长因子 $\beta$ 能够促进脊髓损伤大鼠后肢功能康复<sup>[13]</sup>。

脊髓损伤是临床上最严重的中枢神经损伤之一, 不仅损害了患者的运动和感觉功能, 而且几乎肯定造成损伤平面以下的骨质疏松, 使骨折的危险性增加, 据报道称脊髓损伤后患者骨折的发生率高达34%。许多研究只是强调脊髓损伤的治疗或者骨折防治, 很少有研究关注脊髓损伤后骨折愈合的机制。事实上, 临床上合并脑损伤或者脊髓损伤等中枢损害的患者, 骨折愈合过程中骨痂形成增多, 骨折愈合加速<sup>[14-15]</sup>。在文章早期的研究中以脊髓损伤动物模型为切入点, 已经探讨骨折愈合机制<sup>[16]</sup>。

文章侧重于临床与实验结合, 采用酶联免疫吸附法对12例骨折合并脊髓损伤患者、16例骨折无脊髓损伤患者, 于伤后空腹时采外周静脉血, 并采用酶联免疫法对血清转化生长因子 $\beta 1$ 水平进行检测, 观察骨折合并脊髓损伤与骨折无脊髓损伤患者血清转化生长因子 $\beta 1$ 的变化, 从而探讨转化生长因子 $\beta 1$ 在骨折合并脊髓损伤中的作用机制。

## 1 对象和方法 Subjects and methods

**设计:** 回顾性调查分析。

**时间及地点:** 试验于2012年5月至2014年3月在新疆医科大学第一附属医院生化实验室完成。

**对象:** 收集本院脊柱外科及创伤外科2012年5月至2014年3月间的住院患者。

**诊断标准:** ①骨折合并脊髓损伤: 根据病史、临床表现及体征, 具有神经功能损害表现, 影像学表现, X射线片确定骨折部位及类型; MRI检查证实新鲜骨折, 并有椎管内压迫, 脊髓信号改变, 患者美国脊柱协会ASIA评级处于A-D级。②骨折无脊髓损伤: 根据病史及体征, 无神经功能损害表现, 影像学表现, X射线片确定骨折部位及类型; MRI检查证实新鲜骨折, 无椎管内压迫, 无脊髓信号改变, 患者美国脊柱协会ASIA评级处于E级。

**纳入标准:** ①18-45岁青壮年。②骨折合并脊髓损伤。③骨折无脊髓损伤。④闭合性骨折。

**排除标准:** ①绝经后妇女, 合并骨质疏松、服用类固醇激素和甲状旁腺激素等影响骨代谢的药物。②糖尿病、甲状旁腺功能低下、甲状腺疾患、严重肝肾功能异常和脂代谢异常等可能影响骨代谢的疾患。排除感染, 结核和肿瘤所致骨折。

按照入选标准及排除标准收集患者信息, 收集患者信息均获得患者知情同意, 并签订知情同意书, 且报伦理委员会备案, 最终收集28例患者信息, 并根据是否合并脊髓损伤分为两组, 分别为骨折合并脊髓损伤组及骨折无脊髓损伤组, 其中骨折合并脊髓损伤组患者12例、骨折无脊髓损伤组患者16例。骨折合并脊髓损伤组采用骨折切开复位+减压+植骨内固定, 骨折无脊髓损伤组采用骨折切开复位内固定。

#### 材料:

血清中转化生长因子β1水平检测相关试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
Human TGF-β1 ELISA试剂盒	晶美生物技术有限公司
低温高速离心机、分光光度计、酶标仪	Beckmen GS15R, USA

#### 方法:

**双抗体夹心ELISA法检测血清中转化生长因子β1水平:** 各组病例分别于伤后第2, 7, 14, 28天清晨空腹, 首先取肘正中静脉血, 再于手术当日(手术平均为伤后第2天), 手术过程中取四肢骨折断端血肿血, 分别3-5 mL, 并行4 000 r/min离心10 min, 分离血清, -80 °C冰箱冷藏。血清转化生长因子β1采用双抗体夹心ELISA法测定。试剂盒由上海晶美生物科技有限公司提供, 并严格按照试剂盒说明操作。设标准孔为16孔, 建立标准曲线, 其余各孔加入待测样品, 最后加入抗体及底物, 于酶标仪紫外线波长450 nm处测定吸光度值。

用收集到吸光度值为纵坐标, 标准物浓度为横坐标(对数坐标)绘制标准曲线, 根据样品的吸光度值, 找到其对应的浓度, 乘以相应稀释浓度, 计算出样品实际浓度(μg/L)。

**主要观察指标:** 两组血清中转化生长因子β1吸光度值的变化。

**统计学分析:** 计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 结果用SPSS 19.0统计学软件进行数据处理, 两组间数据比较采用 $t$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

## 2 结果 Results

**2.1 受试者数量分析** 纳入28例均接受抽血检查, 无受试者退出, 数据无脱失。

**2.2 受试者基线分析** 骨折合并脊髓损伤组男7例, 女5例; 年龄20-45岁, 平均(34.0±2.5)岁; 美国脊髓损伤协会ASIA评级, A级1例(男1例), B级4例(男女各2例), C级5例(男2例, 女3例), D级2例(男2例); 损伤原因: 高处坠落4例, 车祸5例, 暴力3例。骨折无脊髓损伤组男12例; 女4

表1 受试者血清转化生长因子β1检测结果 ( $\bar{x}\pm s$ , μg/L)

Table 1 Detection of serum transforming growth factor beta 1 in two groups

组别	n	损伤时间			
		第2天	第7天	第14天	第28天
骨折合并脊髓损伤组	12	303.18±77.05	325.29±77.44	340.22±71.62	299.86±69.02
骨折无脊髓损伤组	16	231.20±109.75	240.10±104.54 <sup>a</sup>	230.94±102.52 <sup>a</sup>	211.70±98.66 <sup>a</sup>

表注: 与骨折合并脊髓损伤组相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ 。

例; 年龄19-44岁, 平均(36.0±4.5)岁; 损伤原因: 高处坠落5例, 车祸5例, 暴力7例。两组年龄、性别比较差异均无显著性意义。

**2.3 骨折合并脊髓损伤患者的血清中转化生长因子β1水平变化** 在损伤第2天, 骨折合并脊髓损伤与骨折无脊髓损伤组血清转化生长因子β1水平差异无显著性意义( $P > 0.05$ ), 在损伤后第7, 14, 28天, 骨折合并脊髓损伤比骨折无脊髓损伤组血清转化生长因子β1水平高( $P < 0.05$ )。在骨折合并脊髓损伤组, 在损伤后第14天血清中转化生长因子β1水平最高, 升高变化最快, 之后下降。在单纯骨折组, 血清中转化生长因子β1在第7天最高, 后逐渐降低, 见表1。

## 3 讨论 Discussion

转化生长因子β对骨代谢的调节起重要作用。随着分子生物学的研究深入, 发现在骨折的愈合过程中, 细胞因子对细胞的调节是骨折修复的关键, 根据细胞因子来源不同, 学者将细胞因子分为内源性细胞因子和外源性细胞因子, 其中在骨折愈合过程中发挥重要作用的是内源性细胞因子, 主要包括有骨形态发生蛋白、血管内皮细胞生长因子、胰岛素样生长因子、转化生长因子β和成纤维细胞生长因子等<sup>[17]</sup>。

有实验表明, 转化生长因子β是在骨组织中水平最丰富的细胞生长因子, 它不仅可以促进成骨细胞分化增殖、刺激骨生成, 而且具有使破骨细胞形成、刺激骨吸收的双重作用, 在骨形成与骨吸收之间发挥重要的纽带作用<sup>[18]</sup>。

在骨折发生后中, 转化生长因子β被诱导水平增多, 有大鼠实验表明, 血清中转化生长因子β1的量会随着脊髓的损伤而增多<sup>[19-22]</sup>, 在大鼠的实验研究中, 无脊髓损伤的大鼠, 血清中转化生长因子β1几乎不表达或者微量表达, 而存在脊髓损伤的大鼠, 转化生长因子β1表达比正常无脊髓损伤的大鼠高<sup>[23]</sup>, 因此, 推测骨折合并脊髓损伤比骨折无脊髓损伤断端血清中转化生长因子β1水平高。在本试验中, 从试验开始进行到结束, 骨折合并脊髓损伤组转化生长因子β1水平始终比骨折无脊髓损伤组高, 但除了第2日两组相比, 血清中转化生长因子β1无明显差异外, 损伤第7, 14, 28日, 骨折合并脊髓损伤比骨折无脊髓损伤断端血清中转化生长因子β1水平平均差异有显著性意义。在王海龙等<sup>[16]</sup>的动物实验中, 同一时期, 脊髓损伤合并股骨干骨折的骨折断端骨痂量明显比单纯股骨干骨折的骨痂量

多。从动物实验角度证实脊髓损伤合并骨折可能加速骨折愈合<sup>[24-25]</sup>, 缩短骨折愈合时间。

因此文章推测脊髓损伤合并骨折血清中转化生长因子 $\beta 1$ 水平增高可能与脊髓损伤促进脊髓炎症反应有一定关系, 但同时转化生长因子 $\beta 1$ 水平的增高可加速骨折愈合, 使其愈合时间缩短。

根据本研究的数据趋势, 脊髓损伤合并骨折组转化生长因子 $\beta 1$ 增长幅度最大在前2周, 在损伤第14天达到高峰, 而骨折无脊髓损伤患者转化生长因子 $\beta 1$ 增长高峰在第1周, 推测脊髓损伤合并骨折后, 血清中转化生长因子 $\beta 1$ 水平增高的第一个阶段<sup>[23]</sup>, 损伤后的第2天, 损伤区血肿内出现细胞外转化生长因子 $\beta 1$ 的明显表达, 此时血清中转化生长因子 $\beta$ 水平增多, 多考虑来源于血肿内血小板破裂, 转化生长因子 $\beta$ 的释放有关, 此时的转化生长因子 $\beta$ 不仅参与脊髓损伤炎症反应, 抑制炎症细胞对血管内皮细胞的破坏, 抑制炎症氧化离子的产生, 抑制诱导型一氧化氮合酶mRNA减弱继发性损伤<sup>[26-29]</sup>, 而且, 刺激间充质细胞聚集, 增殖, 参与骨膜增生反应, 并向成骨细胞转化, 血清中转化生长因子 $\beta 1$ 水平快速增高, 为骨折愈合提供分子支持。

血清中转化生长因子 $\beta 1$ 表达的第二阶段, 星形胶质细胞的胞浆和胞核、髓内和髓外的毛细血管内皮细胞、运动神经元中其表达均增加<sup>[30]</sup>, 因转化生长因子 $\beta$ 为内源性细胞因子, 在第14天, 软骨向骨细胞分化成熟, 血清中转化生长因子 $\beta$ 水平增多, 骨基质蛋白合成增多, 加速软骨内骨化骨, 肉芽组织内纤维细胞合成及分泌大量胶原纤维, 转化为纤维结缔组织, 使骨折两段连接起来, 骨内外膜增生, 新生血管长入, 成骨细胞大量增生, 合成并分泌骨基质, 使骨折端附近内, 外形成的骨样组织逐渐骨化, 形成新骨, 即膜内成骨。另一方面, 文章推测, 此时血清中转化生长因子 $\beta$ 仍然参与脊髓损伤的修复, 诱导产生大量转化生长因子 $\beta 1$ 。

另有实验证实, 脊髓损伤的急性期, 转化生长因子 $\beta$ 的表达增加, 在第21天内增加的量最多, 速度最快<sup>[31]</sup>。文章的数据未能记录第21天情况。而在本文的数据中呈下降趋势, 推测脊髓损伤合并骨折愈合中, 填充于骨折端间和髓腔内的纤维组织逐渐转化为软骨组织, 即形成连接骨痂, 并与内骨痂及外骨痂相连, 在3周内骨痂形成最多, 基本完成了原始骨痂的形成, 比单纯骨折修复需要的4-8周速度快, 因此, 在第28天时, 血清中转化生长因子 $\beta 1$ 水平降低, 推测已经提前完成骨折愈合。

文章收集脊髓损伤合并骨折患者的血液, 进行血清学转化生长因子 $\beta$ 检测, 并进行统计学观察, 在国内尚属于首例, 但此结论仍然需要大量样本参与, 并需要后期影响学方面随访研究。

文章的受试对象的选择收集, 没有像动物实验一样, 单纯收集雄性动物的血样, 因为雌性动物的血液数据会有雌性激素水平的部分干扰, 结果存在选择偏移和误差, 有

局限性。

人体是一个复杂的有机整体, 促进骨折愈合的原因有很多, 文章仅仅研究转化生长因子 $\beta 1$ 促进骨折的愈合作用, 骨折愈合还有其他细胞因子参与, 因此还需要对其他细胞因子进行研究探讨。文章数据存在偏移, 而且在样本量上, 数据较少, 采集数据单一, 期望设计更加严密、样本量更大的临床试验的开展, 以更加有力的证据证实这一作用。

综上所述, 骨折合并脊髓损伤比骨折无脊髓损伤患者相比, 血清转化生长因子 $\beta 1$ 水平高, 血清转化生长因子 $\beta 1$ 增高趋势大, 所以文章推测脊髓损伤合并骨折可能加快骨折愈合, 缩短骨折愈合的时间。

**致谢:** 感谢新疆医科大学第一附属医院分子实验室及脊柱外科全体人员对本次实验的支持。

**作者贡献:** 杨森进行了资料收集、成文; 郭海龙、王海龙, 盛伟斌进行了文章审校者; 徐韬进行组织、协调实验。

**利益冲突:** 文章及内容不涉及相关利益冲突。

**伦理要求:** 根据中华人民共和国国务院颁发的《医疗机构管理条例》, 在实验前将实验方案和风险告知对方, 并签署知情同意书。

**学术术语:** 转化生长因子 $\beta$ -是一多功能蛋白质, 可以影响多种细胞的生长, 分化、细胞凋亡及免疫调节等功能。转化生长因子 $\beta$ 属于转化生长因子 $\beta$ 超家族蛋白。转化生长因子 $\beta$ 可以结合到细胞表面的转化生长因子 $\beta$ 受体结合而激活其受体。

**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] Urakawa H, Tsukushi S, Hosono K, et al. Clinical factors affecting pathological fracture and healing of unicameral bone cysts. BMC Musculoskelet Disord. 2014;15(1):150-159.
- [2] 邹平洲, 曾炳芳, 张先龙. 血管内皮细胞生长因子在异体皮质骨移植修复骨缺损中的作用[J]. 中国修复重建外科杂志, 2005, 19(8): 593-596.
- [3] Pountos I, Georgouli T, Henshaw K, et al. Release of growth factors and the effect of age, sex, and severity of injury after long bone fracture. A preliminary report. Acta Orthop. 2013; 84(1):65-70.
- [4] Kaiser G, Thomas A, Köttstorfer J, et al. Is the expression of transforming growth factor-beta 1 after fracture of long bones solely influenced by the healing process? Int Orthop. 2012; 36(10):2173-2179.
- [5] Estai MA, Suhaimi F, Das S, et al. Expression of TGF- $\beta 1$  in the blood during fracture repair in an estrogen-deficient rat model. Clinics (Sao Paulo). 2011;66(12):2113-2119.
- [6] Sarahrudia K, Thomas A, Mousavi M, et al. Elevated transforming growth factor-beta 1 (TGF- $\beta 1$ ) levels in human fracture healing. Injury. 2011;42(8):833-837.
- [7] Ritz MF, Graumann U, Gutierrez B, et al. Traumatic spinal cord injury alters angiogenic factors and TGF-beta1 that may affect vascular recovery. Curr Neurovasc Res. 2010;7(4): 301-310.

- [8] Servin-Trujillo MA, Reyes-Esparza JA, Garrido-Fariña G, et al. Use of a graft of demineralized bone matrix along with TGF- $\beta 1$  leads to an early bone repair in dogs. *Vet Med Sci*. 2011; 73(9):1151-1161.
- [9] Jiang SD, Yan J, Jiang LS, et al. Down-regulation of the Wnt, estrogen receptor, insulin-like growth factor-I, and bone morphogenetic protein pathways in osteoblasts from rats with chronic spinal cord injury. *Joint Bone Spine*. 2011;78(5): 488-492.
- [10] Ng F, Boucher S, Koh S, et al. PDGF, TGF-beta, and FGF signaling is important for differentiation and growth of mesenchymal stem cells (MSCs): transcriptional profiling can identify markers and signaling pathways important in differentiation of MSCs into adipogenic, chondrogenic, and osteogenic lineages. *Blood*. 2008;112(2):295-307.
- [11] Patil AS, Sable RB, Kothari RM. An update on transforming growth factor- $\beta$ (TGF- $\beta$ ): Sources, types, functions and clinical applicability for cartilage/bone healing. *Cell Physiol*. 2011; 226(12):3094-3103.
- [12] Wang X, Chen W, Liu W, et al. The role of thrombospondin-1 and transforming growth factor-beta after spinal cord injury in the rat. *Clin Neurosci*. 2009;16(6):818-821.
- [13] Kohta M, Kohmura E, Yamashita T. Inhibition of TGF-beta1 promotes functional recovery after spinal cord injury. *Neurosci Res*. 2009;65(4):393-401.
- [14] Spencer RF. The effect of head injury on fracture healing: a quantitative assessment. *Bone Joint Surg (Br)*. 1987;69(4): 525-528.
- [15] Yang TY, Wang TC, Tsai YH, et al. The effects of an injury to the brain on bone healing and callus formation in young adults with fractures of the femoral shaft. *J Bone Joint Surg Br*. 2012;94(2):227-230.
- [16] 王海龙, 盛伟斌, 徐韬, 等. 大鼠股骨骨折合并脊髓损伤模型的构建[J]. *中国组织工程研究*, 2014, 18(18):2818-2823.
- [17] De Gorter DJ, van Dinther M, Korchynskiy O, et al. Biphasic effects of transforming growth factor  $\beta$  on bone morphogenetic protein-induced osteoblast differentiation. *J Bone Miner Res*. 2011;26(6):1178-1187.
- [18] Servin-Trujillo MA, Reyes-Esparza JA, Garrido-Fariña G, et al. Use of a graft of demineralized bone matrix along with TGF- $\beta 1$  leads to an early bone repair in dogs. *J Vet Med Sci*. 2011;73(9):1151-1161.
- [19] Buss A, Pech K, Kakulas BA, et al. TGF- $\beta 1$  and TGF- $\beta 2$  expression after traumatic human spinal cord injury. *Spinal Cord*. 2008;46:364-371.
- [20] Yang L, Blumbergs PC, Jones NR, et al. Early expression and cellular localization of proinflammatory cytokines interleukin-beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha in human traumatic spinal cord injury. *Spine*. 2004;29:966-971.
- [21] Buss A, Brook GA, Kakulas B, Martin D, et al. Gradual loss of myelin and formation of an astrocytic scar during Wallerian degeneration in the human spinal cord. *Brain*. 2004;127: 34-44.
- [22] Beloosesky Y, Weiss A, Hershkovitz A, et al. Serum transforming growth factor beta-1 post hip fracture repair in elderly patients. *Cytokine*. 2011;54(1):56-60.
- [23] 曹新峰, 陈德玉, 赵定麟, 等. 大鼠脊髓损伤后转化生长因子 $\beta 1$  mRNA表达变化及甲基强的松龙的干预作用[J]. *中国临床康复*, 2006, 10(12):98-100.
- [24] Kundi S, Bicknell R, Ahmed Z. The role of angiogenic and wound-healing factors after spinal cord injury in mammals. *Neurosci Res*. 2013;76(1-2):1-9.
- [25] Jiang SD, Jiang LS, Dai LY. Effects of spinal cord injury on osteoblastogenesis, osteoclastogenesis and gene expression profiling in osteoblasts in young rats. *Osteoporos Int*. 2007; (18):339-349.
- [26] 张胜利, 谢玲霞, 杨欣建. 脑外伤合并四肢骨折骨痂局部转化生长因子 $\beta$ 基因表达的实验研究[J]. *中华创伤骨科杂志*, 2011, 13(2): 175-177.
- [27] Konya D, Gercek A, Akakin A, et al. The effects of inflammatory response associated with traumatic spinal cord injury in cutaneous wound healing and on expression of transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) and platelet-derived growth factor (PDGF)-A at the wound site in rats. *Growth Factors*. 2008;26(2):74-79.
- [28] Modlesky CM, Majumdar S, Narasimhan A, et al. Trahecular bone microarchitecture is deteriorated in men with spinal cord injury. *J Bone Miner Res*. 2004;19:49-55.
- [29] Lazo MG, Shirazi P, Sam M, et al. Osteoporosis and risk of fracture in men with spinal cord injury. *Spinal Cord*. 2001; 39(4): 208-214.
- [30] 刘巍, 梁志刚, 张先锋. 转化生长因子 $\beta$ 在骨质疏松骨折愈合过程中表达的实验研究[J]. *中国药物与临床*, 2013, 13(12): 1562-1564.
- [31] O'Brien MF, Lenke LG, Lou J, et al. Astrocyte response and transforming growth factor-beta localization in acute spinal cord injury. *Spine*. 1994;19(20):2321-2330.