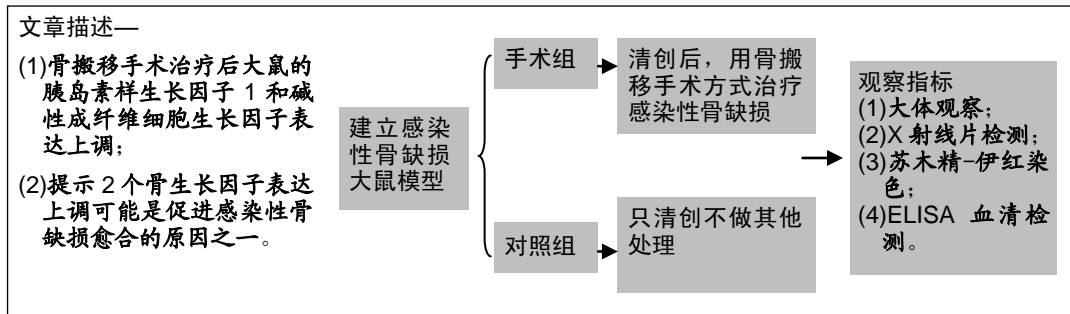


骨搬移治疗感染性骨缺损大鼠骨生长因子的表达

郭彦德¹, 曾高峰², 韦寿锋¹, 张 琼², 周 仨¹, 张传阳¹, 宗少晖¹ (¹广西医科大学第一附属医院脊柱骨病外科, 广西壮族自治区南宁市 530021; ²广西医科大学公共卫生学院, 广西壮族自治区南宁市 530021)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.2857 ORCID: 0000-0002-2695-2232(郭彦德)

文章快速阅读:



郭彦德, 1993 年生, 黑龙江省哈尔滨市人, 汉族, 广西医科大学在读硕士, 主要从事脊柱外科学的研究。

通讯作者: 宗少晖, 博士, 教授, 主任医师, 博士生导师, 广西医科大学第一附属医院脊柱骨病外科, 广西壮族自治区南宁市 530021

文题释义:

感染性骨缺损: 多由高能量损伤引起并伴有感染性病变的骨缺损, 若治疗不及时或处理不当会出现肢体功能障碍和败血症等一系列严重的并发症。

骨搬移: 应用张力-应力法则, 通过外固定架向组织施加牵拉力来促进骨、软组织及神经的生长并加速周围血液循环以达到控制感染、促进损伤修复的目的。

摘要

背景: 研究表明骨愈合是在多种生长因子参与下完成修复、再生与重建的病理生理性过程, 其中碱性成纤维细胞生长因子和胰岛素样生长因子 1 在骨愈合的过程中发挥重要作用。

目的: 探讨胰岛素样生长因子 1 和碱性成纤维细胞生长因子 2 种骨生长因子在骨搬移术治疗大鼠感染性骨缺损前后的表达情况。

方法: 取 SD 大鼠 36 只, 在每只大鼠胫骨下端造约 4 mm 的感染性骨缺损, 2 周后随机分为手术组和对照组。对照组做清创后安装支架不进行搬移; 手术组清创后进行骨搬移手术治疗。于安装支架后第 2 周通过 X 射线摄片; 第 2, 3, 4 周通过苏木精-伊红染色和 ELISA 检测 2 组感染性骨缺损的愈合情况及胰岛素样生长因子 1 和碱性成纤维细胞生长因子的表达情况。实验方案经广西医科大学动物实验伦理委员会批准(批准号为 201903036)。

结果与结论: ①X 射线片显示: 手术组 2 周后缺损区有骨痂形成, 周围软组织未见肿胀, 愈合效果良好; ②苏木精-伊红染色显示: 与对照组相比, 手术组纤维组织有所减少, 成骨细胞增多, 骨小梁趋于致密并有较多间充质细胞和新生毛细血管生成; ③ELISA 结果显示: 相比于对照组, 手术组胰岛素样生长因子 1 表达量在第 2, 3 周显著增多($P < 0.05$); 碱性成纤维细胞生长因子在第 2 周表达量显著增多($P < 0.05$); ④结论: 骨搬移手术治疗后大鼠的胰岛素样生长因子 1 和碱性成纤维细胞生长因子表达上调, 提示胰岛素样生长因子 1 和碱性成纤维细胞生长因子表达上调可能是促进感染性骨缺损愈合的原因之一。

关键词:

骨; 骨缺损; 生长因子; 感染性骨缺损; 模型; 鼠; 实验

中图分类号: R446; R496; R318

基金资助:

广西重点研发计划(桂科 AB17195001), 项目负责人: 曾高峰; 广西高等学校高水平创新团队及卓越学者计划, 项目负责人: 宗少晖; 广西医学高层次骨干人才“139”计划, 项目负责人: 宗少晖

Expression of bone growth factor in rats with infectious bone defects after treatment with bone migration

Guo Yande¹, Zeng Gaofeng², Wei Shoufeng¹, Zhang Qiong², Zhou Qian¹, Zhang Chuanyang¹, Zong Shaohui¹ (¹Department of Spine Surgery, First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China; ²School of Public Health, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China)

Abstract

BACKGROUND: Studies have shown that bone healing is a pathophysiological process that completes repair, regeneration and reconstruction in which multiple growth factors are involved. Insulin-like growth factors-1

并列通讯作者: 曾高峰, 博士, 教授, 博士生导师, 广西医科大学公共卫生学院, 广西壮族自治区南宁市 530021

文献标识码:A

投稿日期: 2019-11-08

送审日期: 2019-11-15

采用日期: 2019-12-20

在线日期: 2020-05-30



Guo Yande, Master candidate, Department of Spine Surgery, First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Corresponding author: Zong Shaohui, MD, Professor, Chief physician, Doctoral supervisor, Department of Spine Surgery, First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Corresponding author: Zeng Gaofeng, MD, Professor, Doctoral supervisor, School of Public Health, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

(IGF-1) and basic fibroblast growth factor (bFGF) are two important bone growth factors in the process of bone healing.

OBJECTIVE: To investigate the expression of IGF and bFGF before and after bone migration in rats with infectious bone defects.

METHODS: Thirty-six Sprague-Dawley rats were selected, and then each rat was made an infectious bone defect of 4 mm long at the lower end of tibia. After 2 weeks, the rats were randomly divided into two groups: an operation group and a control group. After debridement, stents were installed with no bone migration in the control group, and bone migration was performed in the operation group. X-ray observation was performed at the 2nd week after stenting. The healing of infectious bone defects and the expression of IGF and b-FGF in the two groups were detected by hematoxylin-eosin staining and enzyme-linked immunosorbent assay at the 2nd, 3rd and 4th weeks. The experimental protocol was approved by the Animal Experimental Ethics Committee of Guangxi Medical University (approval No. 201903036).

RESULTS AND CONCLUSION: X-ray findings showed callus formation in the defect area at the 2nd week postoperatively, and no swelling in the surrounding soft tissue with good healing effects. Hematoxylin-eosin staining showed less fibrous tissues, more osteoblasts, denser trabeculae, and more mesenchymal cells and new capillaries in the operation group than the control group. Enzyme-linked immunosorbent assay findings showed that the expression of IGF-1 was significantly increased in the operation group compared with the control group in the 2nd and 3rd weeks postoperatively ($P < 0.05$); the expression of bFGF was significantly different from that in the control group at the 2nd week postoperatively ($P < 0.05$). In conclusion, IGF-1 and b-FGF is up-regulated in rats after bone migration, which suggests that the up-regulation of IGF-1 and bFGF may be one of the reasons for promoting the healing of infectious bone defects.

Key words: bone; bone defect; growth factor; infectious bone defect; model; mouse; experiment

Funding: the Major Research and Development Plan of Guangxi, No. AB17195001 (to ZGF); High-level Innovation Team and Outstanding Scholars Program in Guangxi Colleges and Universities (to ZSH); Guangxi Medical High-level Key Talents "139" Plan (to ZSH)

0 引言 Introduction

随着社会的发展, 开放性以及高能量性的损伤逐年增多, 从而致使临床上骨损伤、软组织损伤以及粉碎性骨折等疾病也有所增加。骨缺损类疾病常因处理不及时或处理不善而诱发感染性骨缺损的发生, 由于感染性骨缺损存在骨缺损和感染的双重病变, 极易引起肢体功能性障碍、败血症等一系列严重的并发症, 在临床治疗上较为棘手^[1-3]。就目前医疗水平而言, 感染性骨缺损不仅是国内骨科医生面临的挑战, 也是世界同行面临的难题之一。

近年来, 有研究表明骨愈合是在多种生长因子参与下完成修复、再生与重建的病理生理性过程。其中碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)和胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factors-1, IGF-1)在骨愈合的过程中发挥重要作用。碱性成纤维细胞生长因子是一类具有广泛生物活性的细胞生长因子, 属广谱性有丝分裂原, 可促进神经细胞生长, 诱发毛细血管生成, 同时也具有促进创伤愈合、组织再生修复功能的特性^[4-5]。胰岛素样生长因子1为胰岛素同源多肽, 主要分布于骨细胞中, 可调控成骨细胞, 促进骨基质的合成与矿化并参与骨折愈合与骨重建^[6-7]。

此次研究旨在通过建立大鼠感染性骨缺损模型, 检测胰岛素样生长因子1和碱性成纤维细胞生长因子2种骨生长因子在大鼠感染性骨缺损术前术后的表达情况, 为今后感染性骨缺损的临床治疗及预后提供可靠性生物学指标, 进而为感染性骨缺损的临床治疗提供新思路。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 于2018年1月至2019年8月在广西医科大学实验中心完成。

1.3 材料

1.3.1 实验主要试剂与仪器 大鼠胰岛素样生长因子1(IGF-1)ELISA Kit、大鼠碱性成纤维细胞生长因子(b-FGF)

ELISA Kit(武汉基因美生物科技有限公司); 手术器械(上海医疗器械有限公司), 脱水机(型号ExcelsiorAS)、包埋机(型号HistoStar)(ThermoFisher公司, 美国); 切片机(型号RM2245)、组织切片染色机(型号ST5010)(Leica公司, 德国)双目显微镜, (型号BX 53, Olympus公司, 日本)。

1.3.2 实验动物 选用SPF级成年雄性SD大鼠36只, 体质量200-250 g, 购自广西医科大学动物实验中心, 实验许可证号: SYXK桂2014-0003。所有动物操作程序均根据国家相关实验动物使用准则施行, 并获得广西医科大学动物使用伦理委员会的批准。

1.4 实验方法

1.4.1 制备实验动物模型 将36只大鼠置于SPF级环境适应性饲养1周, 术前8 h禁食禁水。称质量后给予3%戊巴比妥钠(30 mg/kg)腹腔注射。待完全麻醉后, 仰卧位固定四肢, 手术区常规备皮消毒, 铺无菌洞巾, 依次切开皮肤和皮下组织, 仔细分离肌肉, 用骨膜剥离器仔细剥离骨膜后用骨钻在胫骨下端制成长约4 mm大小的骨缺损, 在缺损部位注射 1×10^4 CFU金黄色葡萄球菌, 术后不使用抗生素。

1.4.2 动物分组 造模2周后将感染性骨缺损造模成功的36只大鼠随机分为手术组 and 对照组, 每组18只。对照组用生理盐水、双氧水反复清洗创面, 刮除炎性肉芽及坏死组织并安装支架, 安装支架后不进行搬移。手术组用生理盐水、双氧水反复清洗创面, 刮除炎性肉芽及坏死组织后安装支架待静息期7 d后在胫骨上端进行搬移, 每天搬移0.5 mm, 每天分2次进行, 共搬移14 d。在安装支架后给所有大鼠连续肌注青霉素3 d预防感染。对于术中术后死亡的动物给予及时补充。

1.5 主要观察指标

1.5.1 大体观察 观察大鼠感染性骨缺损模型建立后及手术后的生命体征、精神、进食状况以及伤口情况。

1.5.2 X射线片观察 于安装支架后2周拍摄各组大鼠胫骨X射线片, 通过影像学观察骨缺损部位愈合及情况, 新生骨及骨痂形成情况。

实验动物造模过程的相关问题

造模目的:	探讨胰岛素样生长因子 1 和碱性成纤维细胞生长因子 2 种骨生长因子在骨搬运术治疗大鼠感染性骨缺损前后的表达
借鉴已有标准实施动物造模:	参考文献[10]建立感染性骨缺损大鼠模型
动物来源及品系:	雄性 SD 大鼠购自广西医科大学动物实验中心
模型与所研究疾病的关系:	通过建立大鼠感染性骨缺损模型不仅可以观察到病变的整个过程, 还可以对其治疗方法进行分析, 对日后临床感染性骨缺损的治疗具有重要意义
造模技术描述:	麻醉大鼠后, 于胫骨下端依次切开皮肤和皮下组织, 仔细分离肌肉, 用骨膜剥离器仔细剥离骨膜后用骨钻制成长约 4 mm 的骨缺损, 在缺损部位注射 1×10^4 CFU 金黄色葡萄球菌, 术后不使用抗生素
造模主要诱导用药:	金黄色葡萄球菌
动物数量及分组方法:	36 只大鼠随机分为手术组 $n=18$; 对照组 $n=18$
造模成功评价指标:	伤口有红肿并有黏稠液体分泌
造模后实验观察指标:	①大体观察; ②X 射线片观察; ③组织病理学观察; ④检测大鼠血清胰岛素样生长因子 1 和碱性成纤维细胞生长因子水平
如何补充造模过程中缺失的动物:	造模后第 2 天有 2 只大鼠死亡, 后期进行了补充实验
造模后动物处理:	于安装支架后的第 2、3 和 4 周分批麻醉后处死动物, 取骨缺损断端为中心的骨组织, 待检测
伦理委员会批准:	实验方案经广西医科大学动物实验伦理委员会批准 (批准号为 201903036)

1.5.3 组织病理学观察 于安装支架后的第2, 3, 4周分批麻醉后处死动物, 取骨缺损断端为中心的骨组织, 依次进行固定、脱钙、脱水、石蜡包埋、切片、脱蜡、苏木精-伊红染色、脱水、透明、封固后将其置于低倍镜下($\times 100$)分别观察新骨生长、血管新生、成骨细胞、骨小梁以及胶原纤维等生成的情况。

1.5.4 Elisa检测血清胰岛素样生长因子1和碱性成纤维细胞生长因子表达 分别于安装支架后2, 3, 4周麻醉处死动物, 腹腔取血静置30 min后, 2 500 r/min、4 °C离心, 分离血清并置于-80 °C环境下保存, 采用酶联免疫吸附法检测大鼠血清胰岛素样生长因子1和碱性成纤维细胞生长因子水平。

1.6 统计学分析 采用 SPSS 24.0统计软件进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用独立样本t 检验, $P < 0.05$ 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2组, 实验过程死亡2只, 给予补充, 36只进入结果分析。

2.2 造模情况 36只大鼠在感染性骨缺损造模后的第1天出现饮食减少, 精神状态差, 伤口出现局部红肿并有黏稠液体流出, 活动明显受限等症状; 造模后第2天有2只大鼠

死亡, 后期进行补充; 1周后36只大鼠生命体征平稳, 可正常饮食, 活动自由, 精神尚可。安装支架后, 2组大鼠第1天精神食欲欠佳, 活动受限, 3d后逐渐恢复正常饮食及活动, 造模情况, 见图1。

2.3 X射线片检查结果 安装支架后2周X射线片显示: 手术组可见骨缺损区形成高密度骨痂, 周围软组织未见明显肿胀, 骨小梁排列较为整齐; 对照组的骨缺损间隙仍清晰可见, 未见明显狭窄, 骨痂少且密度低, 未见骨小梁, 见图2。

2.4 苏木精-伊红染色结果 苏木精-伊红切片结果显示, 第2周手术组的纤维组织减少, 可见较多成骨细胞, 骨小梁趋于致密; 对照组可见大量排列紧密的条索状纤维结缔组织, 骨小梁大小不一形态不规则。第3周手术组可见较多间充质细胞和新生毛细血管, 骨小梁结构致密; 对照组可见成软骨细胞, 间充质细胞及少许新生毛细血管, 骨小梁排列紊乱。第4周手术组成骨细胞、骨细胞密集, 骨小梁由密集的成骨细胞环绕, 可见大量类骨质组织; 对照组成骨细胞, 骨细胞较少, 有少量破骨细胞分布, 可见较多类骨质组织, 见图3。

2.5 胰岛素样生长因子1与碱性成纤维细胞生长因子表达水平 通过对Elisa结果统计分析发现, 在第2, 3, 4周手术组胰岛素样生长因子1和碱性成纤维细胞生长因子表达量均高于对照组, 其中手术组胰岛素样生长因子1的表达量, 在第2, 3周与对照组相比差异有显著性意义($P < 0.05$), 第4周差异无显著性意义($P > 0.05$)。手术组碱性成纤维细胞生长因子在第2周的表达量显著高于对照组($P < 0.05$), 第3, 4周差异无显著性意义($P > 0.05$), 见表1, 图4。

表1 两组胰岛素样生长因子1与碱性成纤维细胞生长因子表达情况 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$, ng/L)

指标	时间	手术组	对照组
胰岛素样生长因子 1	2 周	412.06 \pm 14.09 ^a	371.86 \pm 7.43
	3 周	373.15 \pm 8.40 ^a	332.75 \pm 14.72
	4 周	326.60 \pm 15.92	321.88 \pm 12.57
碱性成纤维细胞生长因子	2 周	39.33 \pm 1.52 ^a	36.19 \pm 1.16
	3 周	40.95 \pm 1.65	39.26 \pm 1.34
	4 周	36.06 \pm 1.28	34.67 \pm 1.26

表注: 与对照组相比, ^a $P < 0.05$

3 讨论 Discussion

此次实验通过建立大鼠感染性骨缺损模型不仅可以观察到病变的整个过程, 还可以对其治疗方法进行分析, 对日后临床感染性骨缺损的治疗具有重要意义。感染性骨缺损大鼠模型的建立在细菌种类的选择上主要有4种, 包括金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌和混合细菌^[8]。由于临床上感染性骨缺损以金黄色葡萄球菌多见^[9], 故实验在模型建立过程中选用浓度为 1×10^4 CFU金黄色葡萄球



图注：图 A 大鼠术中造模图；B 为造模完成图

图 1 手术组大鼠骨搬移造模图

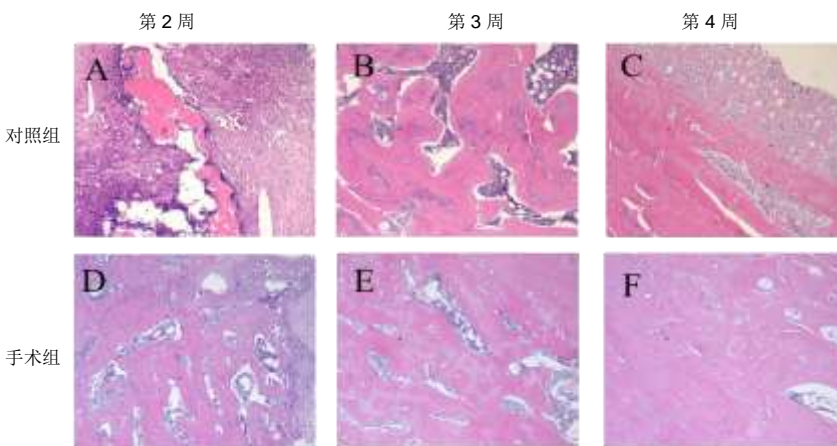
Figure 1 A rat model of bone migration



图注：图 A 为对照组第 2 周，骨缺损间隙存在，愈合效果不佳；B 为手术组第 2 周，骨痂形成，缺损部位部分愈合

图 2 两组大鼠造模后第 2 周骨缺损区(箭头所指)X 射线图片

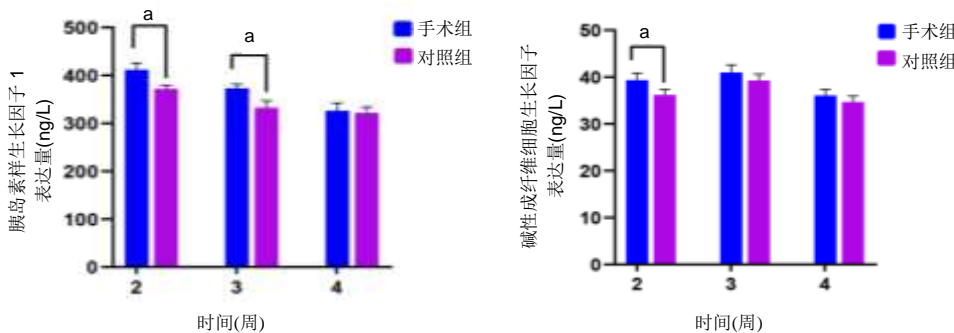
Figure 2 X-ray images of bone defects (arrows) in rats at 2 weeks after modeling



图注：图中 A-C 为对照组 2, 3, 4 周，D-F 为手术组 2, 3, 4 周。第 4 周手术组成骨细胞、骨细胞密集，骨小梁由密集的成骨细胞环绕，可见大量类骨质组织；对照组成骨细胞，骨细胞较少，有少量破骨细胞分布，可见较多类骨质组织

图 3 两组术后骨组织苏木精-伊红染色情况($\times 100$)

Figure 3 Hematoxylin-eosin staining of bone tissues after surgery ($\times 100$)



图注：^a $P < 0.05$
图 4 两组胰岛素样生长因子 1 和碱性成纤维细胞生长因子表达量比较
Figure 4 Comparison of the expression levels of insulin-like growth factors-1 and basic fibroblast growth factor

菌直接置于入创面^[10]，敞开创面并静置 1 h 后缝合以此来模仿开放性骨折的感染机制^[11]，构建感染骨缺损模型。

目前临床上治疗感染性骨缺损的方法主要有 6 种，分别为骨清创术、骨搬移技术、骨移植、抗生素复合缓释载体移植、Masquelet 技术以及骨组织工程^[12]。有研究表明，骨搬移技术是临床上治疗感染性骨缺损的金标准^[13]，该方法通过外固定架缓慢牵拉刺激周围组织，其牵张力的实施是促进组织修复愈合的关键^[14-16]。不仅促进骨、软组织及神经血管的生长，还可以促进周围组织的血液循环。该方法不仅有助于畸形矫正、组织缺损的修复，还可以抑制炎症因子控制感染。但由于目前通过实施骨搬移手术治疗大鼠感染性骨缺损并研究骨生长因子表达情况的报道尚少，因此此次研究采用此方法，探究胰岛素样生长因子 1 与碱性

成纤维细胞生长因子 2 种骨生长因子的表达情况，为进一步研究骨生长因子在感染性骨缺损愈合过程中的作用及机制打下基础。

近年来，研究发现骨愈合的过程与成骨细胞活性、周围血运、激素及骨生长因子密切相关^[17]。国内外学者发现骨生长因子在牵拉成骨过程中对骨愈合及骨重建起到了至关重要的作用^[18]，其中胰岛素样生长因子 1 是由 70 个氨基酸组成的一类单链多肽性物质，在个体的生长发育及细胞增殖分化方面具有积极作用^[19-20]，现如今其已被证实可促进体内外成骨^[21]。其可诱导成骨细胞分化和矿化，促进成骨细胞分裂抑制成骨细胞凋亡，有助于骨小梁的重建^[22]。有研究用 I 型胶原凝胶增强胰岛素样生长因子 1 去修复大鼠面部骨缺损，发现胰岛素样生长因子

1组骨密度和厚度有所增加,证实胰岛素样生长因子1可加快骨缺损的愈合^[23]。MEINEL等^[24]用聚乳酸微球释放系统治疗绵羊长骨骨缺损,证实胰岛素样生长因子1可降低骨损伤部位炎症标志物表达,诱导新生骨形成减少骨吸收。

碱性成纤维细胞生长因子是由氨基酸残基组成的碱性多肽,通过自分泌和旁分泌方式促进细胞分裂增殖,增加血管的通透性及血管生成^[25-26];通过激活丝裂原活化蛋白激酶信号通路促进成骨细胞的增殖迁移,有助于骨与软组织、软骨及神经组织损伤修复^[27-28]。CANALIS等^[29]在碱性成纤维细胞生长因子对大鼠颅骨骨形成的研究中,证实碱性成纤维细胞生长因子可刺激颅骨DNA合成并促进胶原合成细胞数量增加。李辉等^[30]用碱性成纤维细胞生长因子生物蛋白海绵治疗骨缺损型骨折,证实其可促进骨缺损型骨折的愈合,提高愈合率,减少骨折延迟愈合、骨不连及再手术植骨的发生,且无明显不良反应发生。

此次研究在大鼠感染性骨缺损造模后实施骨搬运手术治疗,通过苏木精-伊红染色结果发现手术组的骨小梁密度较对照组致密排列整齐规律,成骨细胞也有所增多。结合X射线片结果,进一步证实了手术组骨痂更为致密,愈合更好的情况。在此基础上,通过Elisa进一步探究其分子机制,结果显示术后手术组胰岛素样生长因子1表达上调,2-4周胰岛素样生长因子1的表达量均高于对照组并于第2周时达到高峰,而后随时间推移表达量逐渐降低,并在第2,3周与对照组间存在显著性差异($P < 0.05$);碱性成纤维细胞生长因子表达量与对照组相比显著增加,2-4周碱性成纤维细胞生长因子的表达量均高于对照组并于第3周达到峰值,第2周与对照组之间存在显著性差异($P < 0.05$)。已有研究指出骨骼肌状态的不同,其相关生长因子分泌情况也会有所不同^[31]。此次研究结果发现在手术后的第2周胰岛素样生长因子1以及碱性成纤维细胞生长因子显著上调,可能是由于机体受到牵张应力作用从而刺激了相关骨生长因子的分泌。一些学者认为碱性成纤维细胞生长因子其生物学效应与成骨细胞的分化程度以及骨吸收相关,胰岛素样生长因子1的调节系统与成骨和破骨细胞的活动有关,所以在牵张早期骨愈合需要大量蛋白的时期2种骨生长因子分泌增多,而随着时间的推移停止了牵张刺激并且骨损伤修复状态有所改变,骨痂及周围组织的增加致使碱性成纤维细胞生长因子以及胰岛素样生长因子1释放减少。这也进一步说明胰岛素样生长因子1以及碱性成纤维细胞生长因子在进行牵张成骨的过程中各自发挥主要作用的时间和阶段有所不同。此次研究的实验结果与FENG等^[32],SCHUMACHER等^[33]在骨牵张实验对相关骨生长因子表达中的结果较为相似。

综合以上背景讨论和实验结果,作者初步认为对感染性骨缺损实施骨搬运后大鼠体内碱性成纤维细胞生长

因子和胰岛素样生长因子1表达水平的上调与感染性骨缺损的修复具有一定的积极作用,它们可能是促进骨修复再生过程的重要因素之一,但这2个骨生长因子在骨修复的病理生理过程中的具体机制仍需进一步探究,在日后的研究中逐步完善。由于影响疾病愈合因素众多且临床个体差异较大,怎样向临床转化等诸多问题还有待进一步研究,故未来仍需进一步结合临床进行综合性深入研究与观察。

作者贡献: 第一作者郭彦德参与设计以及实施,第三作者参加设计,第二作者、四、五作者参与实施,通讯作者宗少晖以及并列通讯作者曾高峰参与设计。未采用盲法评估。

经费支持: 该文章接受了“广西重点研发计划(桂科AB17195001)”“广西高等学校高水平创新团队及卓越学者计划”“广西医学高层次骨干人才“139”计划”的资助。所有作者声明,经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程不存在利益冲突。

机构伦理问题: 实验方案经广西医科大学动物实验伦理委员会批准(批准号为201903036)。实验过程遵循了国际兽医学编辑协会《关于动物伦理与福利的作者指南共识》和本地及国家法规。实验动物在麻醉下进行所有的手术,并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。

文章查重: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- PEARSON JJ, GERKEN N, BAE C, et al. In vivo hydroxyapatite scaffold performance in infected bone defects. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2020;108(3):1157-1166.
- 叶焕竟, Ilizarov骨搬运术治疗胫骨骨髓炎伴长段缺损的疗效分析[J]. 双足与保健, 2018, 27(20):97-99.
- 张晨阳, 贾桂, 张广峰, 等. 骨搬运术治疗胫骨骨折术后大段骨缺损20例疗效分析[J]. 中国矫形外科杂志, 2018, 26(4):372-374.
- IL'IN DA, ARKHIPOV SA, SHKURUPY VA. Analysis of IL-1 α , bFGF, TGF- β 1, IFN γ , MMP-1, and CatD Expression in Multinuclea Macrophages In Vitro. *Bull Exp Biol Med.* 2018;164(4):456-458.
- YANG YH, FU XB, SUN TZ, et al. bFGF and TGFbeta expression in rat kidneys after ischemic/ reperfusional gut injury and its relationship with tissue repair. *World J Gastroenterol.* 2000;6(1):147-149.
- XUE P, WU X, ZHOU L, et al. IGF1 promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells derived from rat bone marrow by increasing TAZ expression. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;433(2):226-231.

- [7] ZHANG Y, WANG Z, WANG Y, et al. A Novel Approach via Surface Modification of Degradable Polymers With Adhesive DOPA-IGF-1 for Neural Tissue Engineering. J Pharm Sci. 2019;108(1):551-562.
- [8] 王晓波,郑欣,陈一心. 感染性骨缺损动物模型的研究进展[J]. 医学综述, 2015, 21(7): 1158-1161.
- [9] PARK KH, CHO OH, JUNG M, et al. Clinical characteristics and outcomes of hematogenous vertebral osteomyelitis caused by gram-negative bacteria. J Infect. 2014;69(1):42-50.
- [10] CHEN X, TSUKAYAMA DT, KIDDER LS, et al. Characterization of a chronic infection in an internally-stabilized segmental defect in the rat femur. J Orthop Res. 2005;23(4):816-823.
- [11] LINDSEY BA., CLOVIS NB, SMITH ES, et al. An animal model for open femur fracture and osteomyelitis: Part I. J Orthop Res. 2010;28(1):38-42.
- [12] MASQUELET A, KANAKARIS NK, OBERT L, et al. Bone Repair Using the Masquelet Technique. J Bone Joint Surg Am. 2019;101(11):1024-1036.
- [13] LIU T, ZHANG X, LI Z, et al. Management of combined bone defect and limb-length discrepancy after tibial chronic osteomyelitis. Orthopedics. 2011;34(8):e363-367.
- [14] 张松,张涛,童超,等. 骨搬运技术治疗胫骨骨缺损及血清炎症因子的变化: X射线影像学评价[J]. 中国组织工程研究, 2018, 22(31): 5003-5008.
- [15] KLIUSHIN NM, STEPANENKO P, MEKKI WA. Treatment of forearm diaphyseal defect by distraction compression bone transport and continued distraction for radial head reduction: A case study. Chin J Traumatol. 2019;22(5):304-307.
- [16] CHEN X, ZHANG W, YU Z, et al. Application of bone transport with unilateral external fixator combined with locked plate internal fixation in treatment of infected tibial nonunion. Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi. 2019;33(3):328-331.
- [17] GKIATAS I, LYKISSAS M, KOSTAS-AGNANTIS I, et al. Factors affecting bone growth. Am J Orthop (Belle Mead NJ). 2015;44(2):61-67.
- [18] 蔡立雄. 骨延长临床应用与淫羊藿苷促进牵拉新骨形成的实验研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2014.
- [19] 李沛, 李钊伟, 唐保明, 等. 富血小板血浆对促进骨折愈合的最新研究[J]. 青海医药杂志, 2017, 47(4): 93-96.
- [20] 王荣, 贾爱华, 刘新艳, 等. IGF-1及其相关性因素对2型糖尿病并发骨质疏松的影响研究[J]. 陕西医学杂志, 2019, 48(9): 1163-1166.
- [21] 朱勇, 唐成芳, 王峰, 等. 胰岛素样生长因子-1对骨质疏松大鼠种植体周围骨组织的影响[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(1): 44-46.
- [22] 林洪明. 胰岛素样生长因子1对糖尿病大鼠伴骨折模型骨折愈合的影响[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(18): 4491-4493.
- [23] LI JA, ZHAO CF, LI SJ, et al. Modified insulin-like growth factor 1 containing collagen-binding domain for nerve regeneration. Neural Regen Res. 2018;13(2):298-303.
- [24] MEINEL L, ZOIDIS E, ZAPF J, et al. Localized insulin-like growth factor I delivery to enhance new bone formation. Bone. 2003;33(4):660-672.
- [25] ZHANG F, PENG WX, WANG L, et al. Role of FGF-2 Transfected Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells in Engineered Bone Tissue for Repair of Avascular Necrosis of Femoral Head in Rabbits. Cell Physiol Biochem. 2018;48(2):773-784.
- [26] 朱清, 陈艳, 龙大宏, 等. NGF联合b-FGF对胚胎大鼠隔区来源神经干细胞分化为神经元的诱导作用[J]. 广东医学, 2019, 40(5): 636-641.
- [27] 王远铜. bFGF: 碱性成纤维细胞生长因子的研究现状与应用[J]. 科技创新与应用, 2019(26): 165-166.
- [28] VALIZADEH A, MAJIDINIA M, SAMADI-KAFIL H, et al. The roles of signaling pathways in liver repair and regeneration. J Cell Physiol. 2019 Feb 15.
- [29] CANALIS E, CENTRELLA M, MCCARTHY T. Effects of basic fibroblast growth factor on bone formation in vitro. J Clin Invest. 1988;81(5):1572-1572.
- [30] 李辉, 刘汉辉, 刘鹤, 等. FGF生物蛋白海绵治疗骨缺损的临床研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2011, 20(16): 1978-1979.
- [31] 方幸. 运动介导肌肉因子IGF-1、FGF-2对小鼠骨的影响[D]. 上海: 华东师范大学, 2018.
- [32] FENG R, MA X, MA J, et al. Positive effect of IGF-1 injection on gastrocnemius of rat during distraction osteogenesis. J Orthop Res. 2015;33(10):1424-1432.
- [33] SCHUMACHER B, ALBRECHTSEN J, KELLER J, et al. Periosteal insulin-like growth factor I and bone formation. Changes during tibial lengthening in rabbits. Acta Orthop Scand. 1996;67(3):237-241.