

• 临床研究 •

骨髓干细胞移植治疗骨不连及骨缺损临床研究

袁进国^{1,2}, 周志玲³, 刘英飞³, 朱振安⁴

[摘要] 目的 观察自体骨髓干细胞移植治疗骨不连及骨缺损的疗效。方法 140 例患者随机分为自体髂骨移植组(A组)及自体骨髓干细胞移植组(B组)各 70 例,均行手术治疗,并行简单有效的内外固定。结果 术后平均愈合时间 A 组为(7.0±2.0)个月,B 组为(5.0±1.5)个月,两组间有显著性差异($P < 0.05$);治疗期间患者无明显不良反应。结论 自体骨髓干细胞移植较传统植骨治疗骨不连及骨缺损疗程短,疗效好,无不良反应。

[关键词] 骨髓干细胞;骨髓移植;骨不连;骨缺损

Study of Marrow Stem Cell Transplant for Treatment of Bone Nonunion and Bone Defection YUAN Jin-guo, ZHOU Zhi-ling, LIU Ying-fei, et al. The 251th Hospital of PLA, Zhangjiakou 075000, Hebei, China

Abstract: **Objective** To observe the curative effect of marrow stem cell transplant on bone nonunion and bone defection. **Methods** 140 patients were randomly divided into the group A (with autøiliac bone transplant) and group B (with autø marrow stem cell transplant). There were 70 cases in each group. All patients in two groups were treated by operation and inside and outside fixation. **Results** After treatment, the average cicatrization time of group A was (7.0±2.0) months, that of group B was (5.0±1.5) months, there was a significant difference between two groups($P < 0.05$). There were no obvious adverse reactions found during the treatment period. **Conclusion** Compared with the traditional bone grafting, treating bone nonunion and bone defection by autø marrow stem cell transplant has obvious superiority with better curative effect, short course and no adverse reactions.

Key words: marrow stem cell; marrow transplant; bone nonunion; bone defection

[中图分类号] R683 [文献标识码] A [文章编号] 1006-9771(2006)08-0706-02

[本文著录格式] 袁进国,周志玲,刘英飞,等. 骨髓干细胞移植治疗骨不连及骨缺损临床研究[J]. 中国康复理论与实践, 2006, 12(8): 706-707.

骨髓干细胞(bone marrow stem cells, BMCs)中的骨髓基质干细胞(bone marrow stromal stem cells, BMCs)具有无限增殖和双向分化的能力。研究显示,存在于骨髓中的 BMCs 可以在特定诱导条件下分化成成骨细胞、软骨细胞、肌腱细胞、脂肪细胞等^[1-3]。本研究旨在观察 BMCs 治疗骨不连及骨缺损的临床疗效。

1 资料与方法

1.1 临床资料 入选患者均经医院伦理委员会及患者家属同意,并签署知情同意书。共有 140 例肱骨及胫骨骨折患者入选,其中男性 76 例、女性 64 例,年龄 6~67 岁,平均 36 岁,均为术后 6~8 个月,于 X 线片显示骨折线清晰、骨折端硬化、骨髓腔闭塞后开始治疗。140 例患者随机分为 A、B 两组各 70 例。A 组为肱骨干骨折 40 例、胫骨干骨折 30 例,采用自体髂骨植骨;B 组为肱骨干骨折 40 例、胫骨干骨折 30 例,采用自体

BMCs 移植。所有病例均为创伤所致。

1.2 骨髓抽取及 BMCs 的分离纯化 在无菌条件下,从患者髂后上棘进行穿刺,分不同部位抽取骨髓 10~20 ml,置于肝素化的无菌离心管中,离心取出脂肪层,用等量含有 10% 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)及 L-谷氨酰胺(0.3 g/L)、抗坏血酸(0.05 g/L)、青霉素钾(10 万单位/L)、硫酸链霉素(0.1 g/L)的 DMEM 培养液稀释骨髓,通过密度梯度离心法^[4,5]分离 BMCs,用生理盐水洗脱制成细胞悬液,镜下计数有核细胞为 4×10^6 /ml 时待用。

1.3 治疗方法 手术显露骨折端,去除局部骨痂,咬除两断端的硬化骨并打通髓腔,复位后采用常规固定方法。A 组患者术中取髂骨适量,制成细骨条植于骨折端周围,对有骨缺损者,将髂骨块填充于缺损处,保证骨皮质的连续性;B 组将制备好的脱钙骨基质,在无菌条件下剪成符合条件的材料,将基质中的水分挤干,与分离后的骨髓混合,使脱钙骨基质的网眼中充满骨髓,将细骨条植于骨折端周围,对有骨缺损者,将骨块填充于缺损处,缝合切口。术后根据内固定的坚固程度,可辅助使用外固定 4~6 周。

1.4 统计学处理 所得数据以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较应用 SPSS 10.0 统计软件进行 t 检验。

作者单位:1. 解放军 251 医院急诊科,河北张家口市 075000;2. 康保县医院外科,河北康保县 076650;3. 河北北方学院附属第二医院骨外科,河北张家口市 075000;4. 上海第二医科大学附属第九医院骨外科,上海市 200011。作者简介:袁进国(1969-),男,河北张北县人,主治医师,主要研究方向:创伤外科临床救治。

2 结果

术后 1 个月复查 X 线片显示: A 组患者骨折端骨痂形成不明显; B 组患者可见骨折端有骨痂形成, 两组患者骨折处皆有压痛。2 个月后复查 X 线片显示: A 组患者骨折端有骨痂形成, 骨折处压痛较前减轻; B 组患者可见骨折端有大量骨痂形成, 骨折处压痛不明显, 此时开始功能锻炼。3 个月后复查 X 线片显示: A 组患者骨折端有大量骨痂形成, 骨折处有轻微压痛; B 组可见骨折端有连续骨痂形成, 骨折处无压痛。

平均愈合时间 A 组为 (7.0 ± 2.0) 个月, B 组为 (5.0 ± 1.5) 个月, 两组间有显著性差异 ($P < 0.05$)。A 组中有 1 例在 6 个月时仍无骨痂形成, 经皮注射 BMCs 2 次后在 12 个月时痊愈。在治疗期间, 除有 5 例出现髂骨疼痛外, 无感染等其他并发症, 随访 6 个月均未发生再骨折。

3 讨论

BMSCs 是存在于骨髓内的一类成体干细胞, 具有很强的增殖能力, 可以在体外迅速倍增, 达到原来细胞数目的 $1 \times 10^{10-20}$ 倍, 因而能够满足构建组织的细胞数量要求。更为重要的是, 细胞在扩增过程中能够保持干细胞的多向分化特征, 在特定的环境下能够分化为成骨细胞、软骨细胞、肌腱细胞、神经细胞和脂肪细胞等^[6-8]。自体 BMCs 移植可避免免疫排斥反应, 使得 BMCs 成为组织工程中重要的种子细胞。

研究显示, 目前的体外培养环境不利于间充质干细胞的长期增殖, 长期培养可能会减弱其合成胶原的能力^[9]。本研究采用短期浓缩分离纯化 BMCs 移植治疗骨不连及骨缺损, 既能增强 BMCs 的成骨能力, 又可避免细胞活性降低。由于种子细胞与支架材料的黏附是细胞种植的关键, 因此在临床应用于骨不连及骨缺损治疗时, 应选用合适的支架材料, 促进细胞种植, 连接两骨折断端, 尤其对于断端间隙超过 20 mm 的病例, 显得尤为重要。目前, 脱钙骨在骨缺损的修复中发挥传导成骨作用, 其结构及组成类似人体骨组织, 符合骨修复的生理要求, 具有良好的生物相容性及传导成骨作用, 可用做骨组织工程的支架材料^[11], 在临床中有效协助 BMCs 发挥成骨效应。

BMCs 的可塑性或横向分化是临床应用的基础, 探索其可塑性具有重要的理论意义和应用前景。应用 BMCs 治疗骨不连及骨缺损时, 主要依靠 BMCs 分化为成骨细胞的能力, 但其分化受一定因素的影响, 其中在生物进化中高度保守的细胞核内因子转录因子 *cbfal* 是成骨细胞分化和骨形成过程的控制基因, 此基因的缺失将导致骨发育不良或终止^[11,12]。另外, *cbfal* 促进成骨细胞标志物如 I 型胶原蛋白和骨钙素的表达^[13]。所有这些均提示, *cbfal* 在成骨细胞的分化和成

熟过程中不但起着关键作用, 而且是必要基因。

本研究结果显示, 自体 BMCs 移植较传统植骨治疗骨不连及骨缺损优势明显, 既能缩短疗程、提高疗效, 又可避免因多次手术骨折不愈合造成医疗纠纷, 而且应用中未发现明显不良反应, 因此在骨科临床有广阔的应用前景。术后应注意的问题主要是骨折须稳固固定, 否则骨折处由于异常活动会使骨吸收大于骨形成而造成骨愈合困难。尚有待进一步研究的问题主要是解决 BMCs 的培养与骨折愈合的量效关系, 以及骨折愈合时间与各种影响因素的关系。

[参考文献]

- [1] Prockop DJ. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues[J]. Science, 1997, 76(4): 71-74.
- [2] Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells[J]. Science, 1999, 284(5411): 143-147.
- [3] Shi XM, Blair HC, Yang X, et al. Tandem repeat of C/EBP binding sites mediates PPAR gamma 2 gene transcription in glucocorticoid-induced adipocyte differentiation[J]. J Cell Biochem, 2000, 76(3): 518-527.
- [4] Conget PA, Minguell JJ. Phenotype and functional properties of human bone mesenchymal progenitor cells[J]. J Cell Physiol, 1999, 181(1): 67-73.
- [5] Jaiswal PK, Jaiswal N, Bruder SP, et al. Adult human mesenchymal stem cell differentiation to the radiogenic lineage is regulated by mitogen-activated protein kinase[J]. J Biol Chem, 2000, 275(13): 9845-9852.
- [6] 孙伟, 李子荣, 史振才, 等. 骨髓间充质干细胞对股骨头坏死缺损模型修复的组织学观察[J]. 中国康复理论与实践, 2005, 11(1): 4-6.
- [7] 呼和塔娜, 郭丽, 凌翎, 等. 骨髓间充质干细胞移植对豚鼠皮肤深 II 度烧伤的治疗作用[J]. 中国康复理论与实践, 2005, 11(1): 13-15.
- [8] 王春雪, 刘艳芳, 毛淑静, 等. 骨髓基质细胞体外分化移植对局灶脑缺血大鼠分子表达及行为的影响[J]. 中国康复理论与实践, 2005, 11(9): 689-692.
- [9] 陆骅, 汤亭亭, 戴尅戎. 体外培养对人骨髓间充质干细胞生物学行为的影响[J]. 临床骨科杂志, 2005, 8(3): 264-267.
- [10] 杨志明, 李彦林, 解慧琪, 等. 生物衍生骨复合成骨细胞体内异位成骨研究[J]. 中华创伤杂志, 2001, 17(8): 475-478.
- [11] Komori T, Yagi H, Nomura S, et al. Targeted disruption of *cbfal* results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts[J]. Cell, 1997, 89: 755-764.
- [12] Otto F, Thornell AP, Crompton T, et al. A candidate gene for cleidocranial dysplasia syndrome, is essential for osteoblast differentiation and bone development[J]. Cell, 1997, 89: 769-771.
- [13] Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, et al. *Osf2/Cbfa1*: A transcriptional activator of osteoblast differentiation[J]. Cell, 1997, 89: 747-754.

(收稿日期: 2006-04-12)