

富血小板血浆复合脱蛋白异种骨在腰椎后外侧融合术中的应用

翟文亮, 柯希煌, 练克俭, 丁真奇, 周 亮, 李 扬

【摘要】 目的 将富血小板血浆复合脱蛋白异种骨应用于腰椎后外侧融合术, 评价其近期临床疗效。方法 将40例患者随机分入试验组和对照组(各20例), 试验组采用脱蛋白牛松质骨+PRP作为骨移植材料, 对照组采用单纯脱蛋白牛松质骨为骨移植材料。观察骨融合、骨移植降解及椎间隙高度等情况。结果 2组均无排异反应。术后1~3个月, 2组病例在椎间隙高度、椎体间角、椎体后凸角上均无明显变化。术后6个月, 2组在椎间高度变化以及椎间角变化上无明显差异($P > 0.05$), 而在后凸角变化上, 对照组明显 $>$ 试验组($P < 0.05$)。12个月时2组在椎间高度变化、椎间角变化以及后凸角变化上的差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 富血小板血浆复合脱蛋白异种骨促进骨融合的能力是一种良好的组合方式。

【关键词】 腰椎; 脊柱疾病; 脊柱融合术; 骨移植; 骨代用品

【中图分类号】 R 681.533 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1672-2957(2008)01-0019-05

Application of platelet rich plasma combined with deproteinized bovine cancellous bone in the posterolateral fusion of lumbar ZHAI Wenliang, KE Xihuang, LIAN Kejian, DING Zhenqi, ZHOU Liang, LI Yang. *Orthopaedics and traumatology Center of PLA, 175th Hospital of PLA, Zhangzhou 363000, China*

【Abstract】 Objective The platelet rich plasma combined with deproteinized bovine cancellous bone was applied in the posterolateral fusion of lumbar and the initial stage effect was evaluated. **Methods** Forty patients were treated with lumbar fusion which were randomly assigned into 2 groups; experimental group and control group. There were 20 cases in each group. Platelet rich plasma combined with deproteinized bovine cancellous bone was transplanted in the experimental group and deproteinized bovine cancellous bone was applied in the control group. The effect of lumbar fusion was evaluated by bone fusion, disappearance of bone transplant and alteration of disc height and so on. **Results** Rejection reaction was not found on 2 groups. There was no obvious difference between 2 groups from 1 to 3 months after operation. And there was no obvious difference between 2 groups in alteration of disc height and intervertebral angle 6 months after operation($P > 0.05$). But the alteration of kyphosis angle in the experimental group was more distinct than which in the control group($P < 0.05$). There was obvious difference between 2 groups in alteration of disc height, intervertebral angle and kyphosis angle 12 months post-operatively($P < 0.05$). **Conclusion** The platelet rich plasma combined with deproteinized bovine cancellous bone could enhance the bone healing obviously.

【Key words】 Lumbar vertebrae; Spinal diseases; Spinal fusion; Bone transplantation; Bone substitutes

J Spinal Surg, 2008, 6(1): 19-23

在脊柱外科手术中植骨融合术尤为重要, 它占所有骨移植手术的50%以上^[1]。在骨移植材料的选择上, 自体髂骨一直以来被认为是最佳的骨移植材料, 但自体髂骨取骨并发症发生率高达30%^[2], 且并不能完全满足脊柱融合手术的需要, 因此植骨材料的来源一直是困扰脊柱外科医生的一个难题。近年来, 随着材料学及骨组织工程学的发展, 已有一

批复合型人工骨面世, 部分学者已将其应用于脊柱外科手术中, 并取得了良好的疗效。本研究是在动物试验的基础上, 将由脱蛋白牛松质骨与自体富血小板血浆(platelet rich plasma, PRP)复合后构建成的一种新型复合型人工骨应用于腰椎后外侧融合术, 评价其近期临床疗效。

1 资料与方法

1.1 一般资料

自2004年6月~2005年2月, 选取40例具有后路切开内固定+植骨融合手术适应证的各种腰椎

基金项目: 漳州市科学技术委员会资助项目

作者简介: 翟文亮(1971-), 硕士, 副教授, 副主任医师

作者单位: 363000 福建, 解放军第175医院全军创伤骨科中心, 厦门大学附属东南医院骨科

疾病患者,病种包括腰椎间盘突出症并/或退行性腰椎失稳症、腰椎弓峡部崩裂并椎体滑脱、腰椎骨折。所有病例按照其入院号末位数的奇偶随机分为试验组(脱蛋白牛松质骨 + PRP)及对照组(单纯脱蛋白牛松质骨),每组 20 例。

其中男 25 例,女 15 例;年龄为 32 ~ 71 岁,平均 51.40 岁。腰椎间盘突出症 18 例(试验组 11 例,对照组 7 例),L₃/L₄/L₅突出 2 例,L₄/L₅突出 6 例,L₄/L₅/S₁突出 4 例,L₅/S₁突出 4 例,L₃/L₄/L₅/S₁突出 2 例;腰椎弓崩裂 5 例(试验组 1 例,对照组 4 例),其中 L₅ 3 例,L₄ 2 例;腰椎滑脱 6 例(试验组、对照组各 3 例),L₅、S₁滑脱 3 例,L_{4,5}滑脱 3 例;腰椎骨折 8 例(试验组 3 例,对照组 5 例),L₂ 3 例,L₃ 3 例,L₄ 2 例;腰椎失稳症 3 例(试验组 2 例,对照组 5 例),L_{4,5}及 L₅、S₁ 2 例,L₃₋₅及 L₅、S₁ 1 例。

1.2 方法

PRP/脱蛋白牛松质骨的制备 PRP 的提取采取二次离心法:术前静脉采血 200 mL,先以 1 200 rad/min 的速度离心 7 min,分离出红细胞成分;再以 3 740 rad/min 的速度,离心 9 min 分离出贫血小板血浆成分,从而获得 PRP,约 20 ~ 30 mL;最后用血小板振荡仪振荡 30 min,使离心后聚积的血小板初步散开,即为达到试验要求的 PRP。

脱蛋白牛松质骨的制备参照丁真奇等^[3]介绍的方法:取新鲜新生小牛股骨骺端松质骨,制成火柴棒状,然后用温水冲洗数次,初步去除骨表面及孔隙中的油脂;接着用双氧水、乙醚交替浸泡数次;阴干、灭菌即制成脱蛋白牛松质骨。

术中根据植骨量的情况,取适量 PRP 及脱蛋白异种骨混合均匀,混合后的产物即为试验组所使用的骨移植材料。一般情况下二者的混合比例为 10 mL PRP 配 10 g 脱蛋白牛松质骨。

手术方法及术后处理 所有病例均选择后侧正中入路。腰椎间盘突出症患者行髓核摘除 + 椎弓根钉内固定 + 后外侧植骨术;腰椎滑脱症患者给予提拉复位或不复位滑脱的椎体 + 椎弓根钉内固定 + 后外侧植骨术;腰椎骨折患者行椎体撑开复位 + 减压或不减压 + 椎弓根钉内固定 + 后外侧植骨术;腰椎不稳症患者行椎弓根钉内固定 + 后外侧植骨术。所有病例植骨前均将其椎板凿成鱼鳞状,以露出松质骨为度。

术后所有病例留置伤口引流管,24 h 引流量 < 10 mL 后拔除;同时给予预防性抗炎、止血等治疗。术后 1 个月左右佩戴支具下床活动,1 年内避免体力劳动。

评价方法 术后观察伤口引流量、术后住院天

数、伤口愈合天数及愈合等级等一般情况。于术后 7 d、1 个月、2 个月、3 个月、6 个月、12 个月定期摄 X 线片检查,观察骨融合及骨移植物降解等情况;同时测量其椎间隙高度、椎体间角及椎体后凸角的变化,来评价脊柱融合情况。椎间隙高度测量:测量上下位椎体前缘、中点、后缘间的距离,其平均值即为椎间隙高度;椎体间角:经上位椎体下面前缘和后缘的连线与经下位椎体上面前缘和后缘的连线形成的夹角即为椎体间角;椎体后凸角:病椎上位与下位椎体后缘线相交之角即为椎体后凸角。试验所取 3 者的变化值为各时间点测得的数值与术后 1 周时所测得的值的差。

2 结 果

试验全部 40 例病例,术后体温正常,未见排斥反应现象,3 ~ 7 d 后拔除引流管,手术切口均获得 I/甲愈合,12 ~ 14 d 后拆线。

X 线片提示术后 1 个月试验组正位片上植骨区密度明显较周围骨质高,侧位片上见椎板后有大量梭形低密度骨移植物影;对照组正位片上植骨处密度亦有所升高,但不及试验组明显。术后 2 个月,试验组正位片上骨移植区密度进一步升高,侧位片上见骨移植物开始降解,其阴影较术后 1 个月时缩小,外形规整;对照组骨移植物吸收不明显,但新骨形成也较 1 个月时增多。术后 3 个月,试验组正位片上骨移植区呈高密度影,椎间隙影模糊,侧位片上见椎板骨质较之前增厚,骨移植物基本降解;对照组正位片上植骨区密度增高明显,但椎间隙仍清晰可见,侧位片上见骨移植物大部分降解。术后 6 个月,试验组正位片上骨移植区呈颜色发白的高密度影,病椎与周围椎体基本融合,侧位片上见椎板骨质增厚;对照组正位片上见椎间隙基本模糊。术后 12 个月,试验组与对照组病例均已完全融合,2 组无明显差别。2 组典型病例术后 X 线片见图 1 ~ 8。

术后 1 ~ 3 个月,2 组病例在椎间隙高度、椎体间角、椎体后凸角上均无明显变化。但术后 6 个月,2 组在椎间隙高度变化以及椎间角变化上差异无统计学意义(见表 1, $P > 0.05$),而在后凸角变化上,对照组明显大于试验组(见表 1, $P < 0.05$)。12 个月时 2 组在椎间隙高度变化、椎间角变化以及后凸角变化上,差异有统计学意义(见表 2, $P < 0.05$)。

3 讨 论

脊柱融合术是获得脊柱稳定性、消除反常活动、改变脊柱受力点以及获得脊柱矫形术远期疗效的重要手段。为了获得良好的融合效果,骨移植材料的

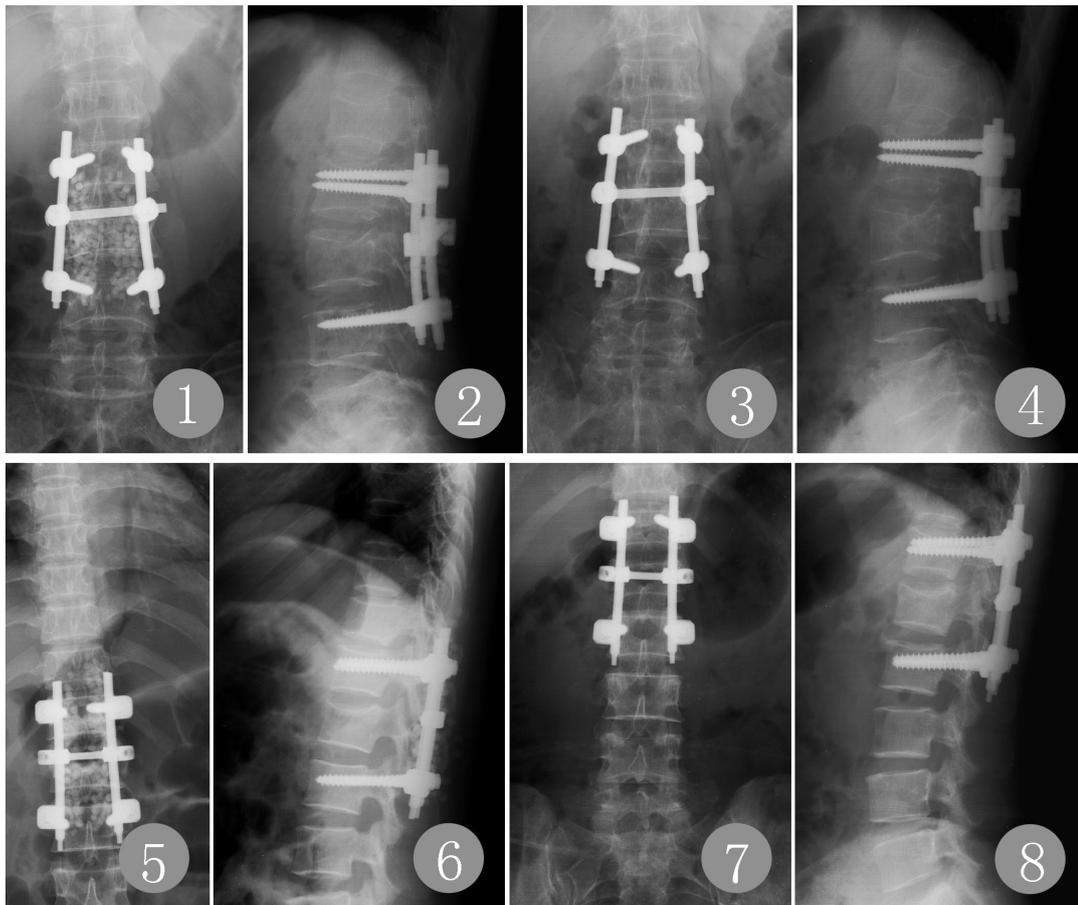


图1 试验组术后1个月正位 图2 试验组术后1个月侧位 图3 试验组术后1年正位 图4 试验组术后1年侧位 图5 对照组术后1个月正位 图6 对照组术后1个月侧位 图7 对照组术后1年正位 图8 对照组术后1年侧位

Fig. 1 L-spine Anteroposterior of degenerative group 1 month post-operatively. Fig. 2 L-spine lateral of degenerative group 1 month post-operatively. Fig. 3 L-spine Anteroposterior of degenerative group 12 months post-operatively. Fig. 4 L-spine lateral of degenerative group 12 months post-operatively. Fig. 5 L-spine Anteroposterior of control group 1 month post-operatively. Fig. 6 L-spine lateral of control group 1 month post-operatively. Fig. 7 L-spine Anteroposterior of control group 12 months post-operatively. Fig. 8 L-spine lateral of control group 12 months post-operatively.

临床效果是十分重要的。自体骨具有生物相容性好、骨融合快、无传播疾病的危险等优点, 一直以来被视为骨移植材料的金标准, 尤其是在脊柱融合术中。目前在脊柱融合术中自体骨大多取自髂骨, 其原因除了该部位具有取骨量大、对机体影响相对较小等优点外, 还因为髂骨的部位离术区近, 通常可以在1个手术切口或1个消毒区域内完成取骨手术, 操作方便。但目前取髂骨植骨的并发症已被充分公认, 如延长手术时间、增加出血量、持续疼痛等, 因此它有着被其他骨移植材料逐渐取代的趋势^[2]。

对骨替代材料的研究已有近百年的历史, 从生物惰性材料到生物活性材料及可降解材料, 理想的骨替代材料应具有良好的生物相容性、骨诱导性及骨传导性, 与其他活性分子复合共同诱导骨的发生等。脱蛋白异种骨是一种传统的骨移植材料, 在临床上已得到广泛的应用, 它有疗效可靠、价格便宜、

来源广泛、制作方法简单等众多优点。但是受制作方法的限制, 在对其进行去免疫源性的同时也去除了其诱导活性, 故它只具有骨传导的作用。因此为提高其临床疗效, 在应用时通常需与具有骨诱导作用的细胞因子结合应用。PRP是血小板浓缩物, 其血小板含量可高达正常的2.05~11.00倍, 当血小板被激活后能通过其 α 颗粒释放出诸如血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、类胰岛素生长因子(insulin-like growth factor, IGF)、血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等多种生长因子^[4~6]。研究表明在骨融合及移植物转变过程中, TGF- β 能够刺激移植物的转变以及细胞的分化^[7,8]; PDGF能够抑制程序性细胞死亡, 并能吸附巨嗜细胞、纤维母细胞、毛细血管内皮细胞和血管平滑肌细胞^[9,10]; IGF能

表 1 术后 6 个月椎间隙高度、椎间角及后凸角变化

Tab. 1 The alteration of disc height, intervertebral angle and kyphosis angle between the control group and the degenerative group 6 months post-operatively

组别 Groups	椎间高度(mm) Disc height (mm)	椎间角(°) Intervertebral angle(°)	后凸角(°) Kyphosis angle(°)
试验组 Degenerative group	0.60 ± 0.38	0.84 ± 0.46	1.07 ± 0.62
对照组 Control group	0.81 ± 0.32	1.05 ± 0.57	1.50 ± 0.75

注: 两组间比较 $P < 0.05$ 。

Note: There is some difference between the 2 groups ($P < 0.05$).

表 2 术后 12 月椎间高度、椎间角及后凸角变化

Tab. 2 The alteration of disc height, intervertebral angle and kyphosis angle between the control group and the degenerative group 12 months post-operatively

组别 Groups	椎间高度(mm) Disc height (mm)	椎间角(°) Intervertebral angle(°)	后凸角(°) Kyphosis angle(°)
试验组 Degenerative group	0.65 ± 0.41	1.07 ± 0.53	1.41 ± 0.74
对照组 Control group	1.08 ± 0.60	1.55 ± 0.66	1.82 ± 0.81

注: 两组间比较 $P < 0.05$ 。

Note: There is some difference between the 2 groups ($P < 0.05$).

刺激细胞的分化; 表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 和 PDGF 能增加 DNA 的合成和细胞的复制^[8]。另外, 最近研究还表明 PRP 对骨前体细胞有诱导分化作用^[11]。针对它们各自的特点, 本研究将脱蛋白异种骨与富血小板血浆相结合, 以提高它们的临床疗效, 结果提示在术后 6 个月内试验组的骨融合效果明显优于对照组, 这说明脱蛋白牛松质骨 + PRP 的组合方式是可行的, 有良好的临床应用效果。

虽然试验的结果以及其他部分学者的研究表明 PRP 在脊柱融合术中有促进骨融合的效果^[12], 但目前也还存在一定的争论。Li 等^[3]用小猪作为试验对象, 分别采用磷酸三钙 (β -tricalcium phosphate, β -TCP)、 β -TCP + PRP、自体骨材料进行腰椎前路融合, 影像学检查显示自体骨组 70% 融合, β -TCP + PRP 组部分融合, 而 β -TCP 组融合率更低, 因此认为在脊柱前路融合中, PRP 并不能够提高成骨能力。分析出现不同结论的原因可能在于: ① 试验中 PRP 的制作方法、使用剂量的大小及其浓度存在差异; ② 前路融合的生物环境与后路融合的生物环境可能存在不同; ③ 融合部位存在微动; ④ 应用的载体不同。

PRP 源于自身, 来源广泛, 对机体无害, 制作方法简单, 费用廉价, 且制作分离出的红细胞及血小板血浆成分可以在术中回输给患者, 不会间接增加患者术中出血量, 危险系数低; 另外多种生长因子联

合应用可以弥补目前单一生长因子应用的不足。而脱蛋白异种骨同样具有临床应用效果良好, 来源广泛, 制作方法简单, 免疫排斥反应低, 降解速度适中等优点。试验表明, 由 PRP 与脱蛋白异种骨组成的复合骨, 不但不会改变它们各自的生物学特性, 反而通过组合, 弥补了它们各自单独应用时的缺陷, 大大增强了它们促进骨融合的能力, 但由于本组病例随访时间较短, 长期疗效仍需观察。

参考文献

[1] Boden SD. Bone repair and enhancement clinical trial design. Spine applications[J]. Clin Orthop Relat Res, 1998, (355 Suppl):S336-346.

[2] Goulet JA, Senunas LE, DeSilva GL, et al. Autogenous iliac crest bone graft. Complications and functional assessment[J]. Clin Orthop Relat Res, 1997, (339):76-81.

[3] 丁真奇, 谭富生, 吴祖尧, 等. 四种移植材料修复兔颅骨缺损的比较研究[J]. 中华创伤杂志, 1994, 10(6):261-263.

[4] Roldán JC, Jepsen S, Miller J, et al. Bone formation in the presence of platelet-rich plasma vs. bone morphogenetic protein-7[J]. Bone, 2004, 34(1):80-90.

[5] Weibrich G, Hansen T, Kleis W, et al. Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration[J]. Bone, 2004, 34(4):665-671.

[6] Okuda K, Kawase T, Momose M, et al. Platelet-rich plasma contains high levels of platelet-derived growth factor and transforming growth factor-beta and modulates the proliferation of periodontally related cells in vitro[J]. J Periodontol, 2003, 74(6):849-857.

- [7] Canalis E, McCarthy T, Centrella M. Growth factors and the regulation of bone remodeling[J]. J Clin Invest, 1988, 81(2):277-281.
- [8] Castro FP Jr. Role of activated growth factors in lumbar spinal fusions[J]. J Spinal Disord Tech, 2004, 17(5):380-384.
- [9] Maehara K, Oh-Hashi K, Isobe KI. Early growth-responsive-1-dependent manganese superoxide dismutase gene transcription mediated by platelet-derived growth factor[J]. FASEB J, 2001, 15(11):2025-2026.
- [10] Savikko J, Kallio EA, von Willebrand E. Early induction of platelet-derived growth factor ligands and receptors in acute rat renal allograft rejection[J]. Transplantation, 2001, 72(1):31-37.
- [11] Kanno T, Takahashi T, Ariyoshi W, et al. Tensile mechanical strain up-regulates Runx2 and osteogenic factor expression in human periosteal cells: implications for distraction osteogenesis[J]. J Oral Maxillofac Surg, 2005, 63(4):499-504.
- [12] Lowery GL, Kulkarni S, Pennisi AE. Use of autologous growth factors in lumbar spinal fusion[J]. Bone, 1999, 25(2 Suppl):47S-50S.
- [13] Li H, Zou X, Xue Q, et al. Anterior lumbar interbody fusion with carbon fiber cage loaded with bioceramics and platelet-rich plasma. An experimental study on pigs[J]. Eur Spine J, 2004, 13(4):354-358.

(收稿日期:2007-01-31)

(本文编辑 张丽)

· 消息 ·

首届全国脊柱非融合新技术研讨班

由国际脊柱功能重建学会中国分会(SASCB)、《中国脊柱脊髓杂志》编辑部 and 中国人民解放军空军总医院联合主办,中国人民解放军空军总医院承办的“全国脊柱非融合新技术研讨班”(2008年国家级继续教育项目,编号:2008-04-07-017)将于2008年5月23~25日在北京召开。脊柱非融合技术是针对传统的融合手术有可能导致脊柱退变加速及活动功能丧失而提出的一种新的脊柱稳定技术,这种技术又称为半刚性或半坚强固定技术,允许手术节段的脊柱维持一定的活动功能。该技术是目前脊柱外科中的新技术、新理论、新热点。届时将邀请该领域著名专家做系统发言,探讨脊柱非融合领域的基本理论,重点介绍临床应用技术及最新进展,并针对临床疑难问题及病历开展研讨。欢迎各级脊柱等骨科医师踊跃参加,并将姓名、单位等及时反馈给大会联系人。

大会主席:邱贵兴院士、张光铂教授、侯树勋教授、王岩教授。会议执行主席:伍骥教授。

会议人数:参加人数限制为100名,按报名回执时间的先后定额。

报名方式:欢迎以E-mail的方式和手机短信报名,请务必注明:姓名、性别、职称、单位、联系电话、详细通讯地址、邮编等。

回程票务:由于会期短,鼓励与会者在启程前最好在原地自行预定好往返票,如需要会议组预定回程机票或火车票者,务必在2008年5月10日前与会议联系人确认。

参加者可获得国家一类学分

会议注册费500元人民币。会议食宿由会务组安排,费用自理,按规定回单位报销。

会期安排:2008年5月23日14-22时报到,24日会议,25日上午12点前撤离。

会议报道地点:北京市海淀区阜成路40号裕龙大酒店大堂(空军总医院西侧)。

到达裕龙大酒店交通路线:首都机场:可乘机场至公主坟线路大巴在航天桥站下车,阜成路向西200米第一个红绿灯西南侧。北京站:乘坐地铁在阜成门换乘121、335、846、运通106路公交车。北京西站:乘坐40路公交车。均在西钓鱼台下车。

有意发言者,欢迎采用Email投稿,500-800字结构式摘要和全文各一份,与同道交流,截稿日期2008年3月20日。

联系地址:北京市海淀区阜成路30号空军总医院骨科邮编:100036 联系人:伍骥 崔玉明 范恒华 电话:010-66928362;010-68410099 转 6362、6361;13331161086(伍骥);13811882676(崔玉明);13366566637(范恒华)

E-mail:bjwuji@yahoo.com.cn, fanhh8@yahoo.com.cn