

引导骨再生及相关因子在骨缺损中复合应用

Induction of bone regeneration and the related factors jointly used for the treatment of bone defect

何虹 黄剑奇

HE Hong, HUANG Jianqi

【关键词】 骨缺损; 引导组织再生 【Key words】 Bone defect; Guided tissue regeneration

骨组织是以再生方式完成损伤修复(骨折愈合等)的少数组织之一, 引导性组织再生概念适用于骨再生过程即引导性骨再生(guided bone regeneration, GBR)。所谓骨引导再生(GBR)是采用生物隔膜技术阻止上皮和纤维组织长入骨创区, 保证理想的骨再生愈合空间, 保护骨组织细胞增殖修复, 促进骨创区良好快捷地愈合。目前, 国内外对 GBR 膜以及骨诱导因子或者复合材料报道纷呈, 但尚未见有复合应用的系统介绍, 笔者就此综述如下。

1 GBR 技术

1.1 GBR 适用范围 适于脑外科、骨科、胸外科的组织及器官替代^[1], 长段骨缺损(炎症、肿瘤), 骨折缝隙, 人工关节或骨移植块与受体间的缝隙, 骨端间、骨床与移植骨间、骨与假体(种植体)界面间防止纤维结缔组织长入使骨不愈合, 假体松动。上颌窦抬高术, 下颌骨重建, 牙槽骨缺损重建, 颌骨空腔的修复, 根尖病, 腭骨重建^[2], 牙周病, 牙槽嵴扩增等。其应用前景广阔。

1.2 GBR 模型中骨再生机理 有研究^[3]肯定了膜在 GBR 中的核心作用; 并认为完整的血肿构成了连接两骨端的桥梁, 是 GBR 的结构基础; 还指出应用特异性标志物骨钙素免疫组织化学技术分析 GBR 成骨细胞来源有 2 个: ①骨髓基质细胞中的骨形成干细胞、骨祖细胞、骨母细胞(能合成分泌 BMP 等因子); ②骨膜细胞及骨膜间质细胞。国外自 80 年代末开展 GBR 试验研究, 多局限于扁平骨的贯穿性缺损修复。国内外关于长管状骨 GBR 模型的骨再生机理和模式上存在分歧: 张子军硅胶膜实验认为成骨细胞在上述 2 种来源中以后者(骨膜)为主^[3]; 而张浩认为骨髓在 GBR 模型中起决定作用, 外骨膜对膜管内成骨过程无影响^[4]。另外, 国外学者用聚氨基甲酸酯膜在骨膜外包裹桡骨缺损实验认为 GBR 模型修复缺损主要靠外骨痂, 膜管内成骨组织少^[5]; 而关于这一点张子军等^[3]及张浩等^[6]意见一致, 认为修复长骨缺损依靠膜管内成骨组织, 在位置及成骨特点上与骨修复过程中内骨痂相似, 膜管外骨痂将被吸收。张浩还指出①缺损修复过程是在缺损两端形成骨尖端, 然后两个成骨尖端相对生长直至汇合, 这一特点与非 GBR 模型结果有着明显区别。②成骨过程后期仍

缺乏熟皮质骨, 显示其成骨能力不足。③两成骨尖端汇合时出现软骨组织可能与机械刺激有关, 表明成骨过程还受许多因素影响。笔者认为这也提示了 GBR 膜复合诱导因子的必要性。该研究又发现 GBR 模型中皮质骨哈弗系统重建与骨修复过程在时空上密切相关, 该现象发生于 GBR 模型中而无需类似于骨折一期愈合的特殊条件即严格的复位固定, 这也提示了骨引导技术的重要性。

2 骨诱导因子 BMP、TGFβ、FGF 等

长期以来, 植骨与骨折愈合骨再生机理都是以骨传导学说(Osteoconduction, Axhausen 1907~ 1911 年提出)来阐明, 认为骨缺损修复与骨折愈合过程是爬行替代, 成骨不能异位发生, 且胚胎期即已定向。而骨诱导是在一种可弥散的骨形态发生蛋白(Bone morphogenetic protein, BMP)作用下, 间充质细胞的募集反应过程朝着形成软骨和骨的方向发展。诱导成骨作用必须具备三个条件^[7]: ①诱导刺激物; ②间充质细胞; ③有利于骨生长的血液供应环境。BMP 靶细胞包括未分化的间充质细胞以及已经分化的肌细胞, 和其他结缔组织细胞都能转化为骨系细胞。BMP 作为诱导因子从骨基质中产生, 其诱导成骨作用与旁分泌系统相似。我国于 1987 年已成为继美国、日本之后研究成功 BMP 的第三个国家。它是一种酸性低分子量糖蛋白, 组成蛋白集合物巨分子, 疏水, 与羟基磷灰石(HA)亲和力较强。其 MW 都在 20K 左右, 牛、人、兔、猪基本相同。亦已制备 BMP 抗血清和单克隆抗体。将 BMP 用于组织工程中, 预制骨组织, 修复骨缺损及气管缺损, 亦已成为热点之一。骨科与口腔科(牙周牙髓, 根管治疗及颌面颌骨缺损)应用较广。

成熟型的转化生长因子 TGF-β 是一分子量为 25K 的同源二聚体, 在血小板和骨组织中含量相对较高。它可以加速细胞 DNA 合成, 刺激胞外基质的合成与分泌, 加速 I 型胶原的合成, 可以刺激软骨形成和软骨内成骨, 调节成骨细胞的游走及聚集。TGF-β 是具有双重效应的条件生长因子^[8], 它对成骨细胞作用的多样性和复杂性提示 TGF-β 在骨形成中的主要作用可能在于介导机体系统因素对骨细胞的作用, 以及调控局部骨生长因子之间的作用。TGFβ 与 BMP 同属 TGFβ 超家族成员。BMP 通过前述反馈机理刺激间充质细胞向骨系细胞分化, 增补新的骨祖母细胞, 再由 TGFβ 等生长因子

刺激这些细胞有丝分裂。因而促进骨质形成与成熟,形成大量新骨。TGF β 与 BMP 均可促进骨膜成骨,但二者所作用的靶细胞及其部位有所不同;且二者所具有的扩散作用均有限,提示若联合应用 BMP 和 TGF- β 将会更好地促进骨折或骨缺损的修复。

碱性成纤维细胞生长因子(basic Fibroblast growth factor, bFGF)是一种广泛分布于人体细胞但含量极微的生物活性物质,主要作用于中胚层组织与神经外胚层组织和细胞,它具备重要生理功能,促进多种细胞特别是成纤维细胞增殖,促使微血管生长分化,使局部毛细血管增加;刺激骨细胞 DNA 合成和增殖,增加骨细胞合成胶原和非胶原蛋白的能力,有利于骨质生长。bTGF 软骨内成骨作用是部分通过 TGF- β 介导的。FGF 诱导成骨有剂量依赖性,bFGF 对植骨块内新骨形成的长度和宽度的影响呈双相剂量反应曲线,每个载体中含 8~200ng bFGF 是最佳剂量区间。目前人们致力于开发 FGF 最佳载体系统,希望通过 FGF 复合载体构建 FGF 缓释系统^[9],应用于骨质缺损的再生修复。

骨形成是一个复杂过程,起调节作用的生长因子还有:①全身性生长因子:EGF(上皮细胞生长因子),PDGF(血小板衍生生长因子),IGF(胰岛素样生长因子);②局部调节因子:BDGF(骨衍生生长因子),CDF(软骨衍生生长因子),血管内皮生长因子(VEGF)。IGF-1 是一种对成骨细胞作用较全面的生长因子,对成骨细胞增殖和分化均有明显的促进作用。

3 GBR 材料

3.1 载体材料:CBB、珊瑚等及 ECM 局部单独应用 BMP 和 TGF- β 活性时效短暂,不能提供支架作用。而生物陶瓷是一种生物相容性较好的骨缺损修复材料,但它缺乏骨诱导性。将三者复合可弥补相互不足。陶瓷化牛骨 CBB 属多孔生物陶瓷类,其结构接近人正常骨组织 HA 结构,可以部分吸收。这种多孔系统可以容纳复合进去的 BMP 和 TGF- β ,植入后可缓慢释放 BMP 和 TGF- β ,同时还有利于骨组织长入。bBMP 与珊瑚的复合物也是较理想的膜下间隙充填材料,保持间隙的存在明显增强膜的单纯引导作用,使种植体内骨修复启动早速度快,缩短种植周期,扩大种植体适应证。BMP 载体复合材料还有聚酯、钙磷陶瓷、无活性脱矿骨体基质、(牛、鼠)胶原、胶原/HA、纤维蛋白粘合剂、硫酸钙及 PVP(聚乙烯吡咯烷酮)。各有优缺点。理想载体材料应具备这些条件:无免疫原性;具备良好生物相容性;具有完全生物降解性,并能在较短时间内被新骨取代;具有较高机械强度;与 BMP 复合方法简便,复合后不影响 BMP 生物学活性;来源广泛,价格低廉。

对胞外基质(Extracellular matrix, ECM)蛋白的认识有可能使我们最终了解 GBR 的细胞及分子生物学机理^[10],以及应用于牙周病病因研究与治疗和开发组织工程学新型支架材料。胶原蛋白 I 型,骨涎蛋白,骨桥蛋白,纤维粘连蛋白是骨组织中主要的 ECM 蛋白。激素调节是快调、粗调、全身调节;ECM 蛋白是微调、局部调节;细胞因子介于二者之间,三者相互制约构成网络;而 ECM 又与细胞核、细胞质相联系。ECM 提供支撑、附着及信号,并控制细胞的生存,与成骨细胞生长分化、骨组织缺损修复和骨改建关系密切。

3.2 膜材料 膜材料的研究不断发展,主要分为:①不可吸收性非降解膜材料,以 PTFE(聚四氟乙烯)为代表;②可吸收性降解膜材料,以 PLA 和胶原膜为代表。这两大类材料各有特性各有优缺点。第一种膜优点有:稳定、生物相容性好;不影响再生过程;可任意调整体内滞留时间,出现并发症时可及时除去;有较强机械性能和再生空间保护能力;应用广泛,时间长,疗效可靠。缺点为:临床应用操作费时而且困难,需再次手术摘除;造价昂贵。但 ePTFE 膜现有聚丙烯网加强及纯钛加强型,利于塑性和临床操作,已商品化如 Teflon, Biopore, Gore Tex 膜。第二种膜按来源可分为:无机物多聚体膜如 PLA(多聚乳酸),PLA/PGA(多聚乳酸多乙基共聚物),聚二氧六环^[11];有机物膜如胶原膜,碳带材料,双苯磷酸叠氮化合物交联牛 I 型胶原膜^[12],几丁质(聚羟丁酸盐膜),冻干硬脊膜, Cargile 膜(牛盲肠制成),冷冻异体硬脑膜(液氮去抗原,韧性好,吸收时间有保证),自体腭骨膜移植, polyglactin PG910 膜^[13];以及有机与无机复合膜 β -TCP/CPLA 即磷酸三钙/多聚乳酸和脂多酯共聚物膜^[14]。它克服了第一种材料之缺点,但也有炎症和排斥反应的缺憾;还应注意必须保持膜降解时间与组织愈合时间之平衡。已知牙周缺损愈合时间为 2~4 周,生物材料降解时间:PLA 为 3~4 月,PLA/PGA 为 4~8 周,胶原膜为 2~6 周, Cargile 膜为 4~8 周,冻干硬脊膜为 6~8 周。

3.2.1 GBR 膜作用机制 GBR 膜保护骨创及其内血凝块,保持血肿作用再生的结构基础;保持骨组织再生空间,对抗表面软组织压力;阻隔上皮结缔组织长入骨创;膜设计呈微孔状,有利于营养供给而隔绝与再生无关的组织细胞介入;诱导骨创区成骨活动的进行,增加骨祖细胞密度及 BMP 等成骨因子浓度;产生平板效应促进表面组织的愈合,从而诱导和促进早期愈合。

3.2.2 国外对可吸收性膜与不可吸收性膜的优劣评价不一 Crump TB 等^[15]对多孔型、致密型 PTFE 非生物降解膜和含聚乳酸和枸橼酸酐基的多孔型可吸收性生物降解膜 3 种常用膜引导骨再生的效果做了实验比较,认为致密型 PTFE 对骨组织愈合作用好且易于摘除,而一般认为多孔型 PTFE 为同类中代表;另有临床研究也认为多孔型 PTFE 与 PLA 之间无明显差异,选择 PLA 仅仅因为其生物可吸收性,只需一次手术,并认为合成性生物可吸收性膜如 PG910 膜值得推广^[16]。还有免实验结果表明不可吸收性膜在骨量、高度、强度和韧性方面不能被可吸收性膜取代^[17]。理想膜的应用可根据具体需要来决定孔的大小、聚合物类型的选择,而不应该有特定的单一的规定^[18]。

国外的复合研究主要有膜结合 DFDB(脱钙冻干骨)、HA、CBB、PDGF/IGF 也有临床研究^[12]。多种骨生长因子与复合材料的联合应用及最佳复合方式和复合比例是当今值得进一步研究的方向;多产价廉的理想性膜也未落实,但前景广阔,可用于临床及基础各科。

参考文献

- 李祖兵, Cranin AN, Mehrli MC. 生物可吸收引导组织再生膜的实验研究. 口腔医学纵横杂志, 1998, 14(4): 200.
- 山田真英, 小泽靖弘, 山满, 等. 口腔科, 1998, 47(5): 669-670.

3 张子军, 卢世璧, 王继芳, 等. 引导性骨再生过程的实验研究. 中华骨科杂志, 1995, 15(9): 61.

4 张浩, 卢世璧, 王继芳. 去除外骨膜对引导性骨再生模型成骨过程的影响. 中华外科杂志, 1998, 36: 66-69.

5 Nielsen FF, Karring T, Gogolewdis S. Biodegradable guide for bone regeneration. Acta Orthop scand, 1992, 63: 66-69.

6 张浩, 卢世璧, 王继芳. 引导性骨再生模型成骨特点及骨髓的作用. 中华骨科杂志, 1998, 18(9): 540-543.

7 吴祖尧. 诱导成骨与骨形态发生蛋白. 中华骨科杂志, 1998, 18(3): 231-234.

8 Takata T, D' Errio JA, Atkins KB, et al. Protein extracts of dentin affect proliferation and differentiation of osteoprogenitor cells in vitro. J Periodontol, 1998, 69: 1247-1255.

9 王伟. 成纤维细胞生长因子诱导骨形成研究进展. 国外医学口腔医学分册, 1998, 25(6): 340-342.

10 宁江海. 细胞外基质与骨损伤修复. 国外医学·口腔医学分册, 2000, 27(1): 41-44.

11 Peter E, Ti Sun Kim, Harald S, et al. Guided tissue regeneration with bioabsorbable barriers: Intro-bony defects and class II furcations. J Periodontal, 2000, 71: 999-1008.

12 Shahram Z, Roman L, Gerard B, et al. Evaluation of a diphenyl phosphorylized crosslinked collagen membrane for guided bone regeneration in mandibular defects in rats. J Periodontal, 1998, 69: 1238-1246.

13 Peter E, Markus L, Douglas KB, et al. Periodontal surgery of vertical bony defects with or without synthetic bioabsorbable barriers. 12-month results. J Periodontal, 1998, 69: 1210-1217.

14 Koyama Y. Study on regeneration of mandibular bone with bioabsorbable organic/inorganic composite membrane. Kokubyo Gakkai Zasshi, 2000, 67(1): 63-69.

15 Crump TB, Francisco, Harrison, et al. Influence of three membrane types on healing of bone defects. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1996, 82(4): 365-374.

16 Thitiwan T, Charles WS, Lewis JC, et al. Clinical comparison of bioabsorbable barriers with non-resorbable barriers in guided tissue regeneration in the treatment of human intro-bony defects. J Periodontal, 1998, 69: 632-641.

17 Koichi I, Koichi N, Seidai M. Effects of bioabsorbable and non-resorbable barrier membranes on bone augmentation in rabbit calvaria. J Periodontal, 1998, 69: 1229-1237.

18 Bartee BK. Evaluation of a new polytetrafluoroethylene guided tissue regeneration membrane in healing extraction sites. Compend Cont Educ Dent, 1998, 19(2): 1256-1264.

(收稿: 2001-09-28 编辑: 李为农)

• 病例报告 •

骶尾部脊索瘤误诊为腰椎间盘突出症一例

刘建业 张云峰 苏明华 周再华
(保山地区中医院, 云南 保山 678000)

患者, 女, 29 岁, 因妊娠期腰及双下肢疼痛 5 个月, 于产后半月二便失禁, 双下肢无力, 无潮热盗汗, 在当地诊断为腰椎间盘突出症, 并在 1 个月后进行 L₅S₁ 全椎板髓核摘除术, 术后疼痛稍减。20 余天后, 腰骶部疼痛剧烈, 给予抗感染治疗, 疗效不显。于 2 个月后, 我院以“骶尾部肿瘤待排?” 收入院, 查: 骶部膨大, 向后凸起, 肿块约 25cm × 25cm, 边界不清, 质地中等, 压痛, 无波动感, 二便失禁, 双下肢肌力 III 级, 皮肤痛、温、触觉消失, 膝跟腱反射消失、骨盆分离挤压试验(+), 肛门指检: 扩约肌松弛, 骶骨前缘无肿块。X 片提示: 骶椎明显膨大近一倍, 双骶髂关节处呈溶骨性破坏, 尾椎后缘骨膜隆起。术前胸部 X 线片有散在结核钙化点, 术前 CT 示: L₅S₁ 椎间盘突出, 余(-)。细阅该片可见骶椎稍膨大。ESR: 76mm/h, ASO ≥ 500^u, CRP(+), ALP44u/L, WBC18.5 × 10⁹/L, RBC3.3 × 10¹²/L, Hb95g/L, N83%, L17%, 骶椎组织活检: 肉眼见组织有一层包膜, 包膜下呈白色半透明胶冻样物质, 易出血。镜下见: 切面灰白实性分叶状, 瘤细胞索状排列, 可见囊泡状细胞。结果: 脊索瘤(低度恶化), 最后确诊为: 巨大脊索瘤。

讨论

脊索瘤是一种较少见的低度恶性性肿瘤, 由胚胎时期残

留的脊索组织发生, 多发生于骶骨及蝶枕部, 肿瘤生长缓慢, 浸润局部, 冲破骨质到骨外向周围软组织生长的, 表面均覆以一层纤维包膜, 故不穿破到邻近腔器内, 骶尾部脊索瘤通常可引起腰痛, 坐骨神经痛和大小便紊乱, 且手术治疗选用与周围正常组织边缘一起切除, 但术后极易复发, 对化疗、放疗不敏感。

对疾病的诊断不能完全依靠 CT、X 线, 而应根据患者的症状、体征、生化检查, 综合分析, 才能下结论, 我们认为: ①患者术前(产后 20 余天)已有二便失禁, 腰及双下肢症状, 虽然 CT 片、X 线提示 L₅S₁ 椎间盘突出, 但此时已出现骶椎膨大, 但未进行骶椎 CT 加扫, 在情况不明下, 凭腰椎 CT 就下结论是不可取的。我们考虑, 当初脊索瘤已波及骶神经而致二便失禁。②患者术后骶尾椎疼痛剧烈, 双下肢症状未消, 二便失禁, 骶尾椎明显膨大畸形, 就应考虑其它诊断, 而做进一步检查, 我们认为 L₅S₁ 全椎板髓核摘除术激化了脊索瘤的生长, 使其在短短 3 个月生长成为 25cm × 25cm, 其生长速度是比较快的。③在偏远地区医疗设备不足, 当然脊索瘤也可能误诊为其它肿瘤, 但最后诊断依据是病理检查。如果能在早、中期确诊, 手术清除病灶比较容易。

(收稿: 2001-01-19 编辑: 李为农)