

定及外固定架相比则有一定的优越性。张效良等<sup>[8]</sup>认为自体骨髓单独移植对促进骨愈合有肯定的效果。同时我们体会此类损伤骨折愈合时间较长,在术中植骨并自体骨髓移植以促进骨折愈合。

总之,胸腰椎爆裂骨折合并下肢骨折的处理仍有许多问题值得探讨。临床医生需要详细了解受伤机制,选择合理适度的体格检查和专科查体,附加必要影像检查,X线片及CT、MR等。稳定病情,排除手术禁忌证后,早期手术、固定。

参考文献

- 1 Hebert JS, Bumham RS The effect of polytrauma in persons with traumatic spine injury A prospective database of spine fractures Spine, 2000, 25 (1): 55-60
- 2 唐天驷, 陈亮. 要掌握好胸腰椎脊柱骨折前路的适应证. 中国脊柱脊髓杂志, 1999, 2(2): 62

- 3 王玉记, 李玉伟, 许纬洲. 多发创伤中脊柱骨折误漏诊原因分析. 中国误诊学杂志, 2005, 5 (11): 2072-2073.
- 4 Heyde CE, ErteI W, Kayser R. Management of spine injuries in polytraumatized patients Orthopade, 2005, 34 (9): 889-905.
- 5 郑平, 史宝明. 合并胸腰段脊柱损伤的多发骨折的治疗. 中华创伤骨科杂志, 2005, 7 (12): 1185-1186.
- 6 Patel RV, DeLong W, Vresibovic EJ. Evaluation and treatment of spinal injuries in the patient with polytrauma Clin Orthop Relat Res, 2004, (429): 348-349.
- 7 Harris MB, Sethi RK The initial assessment and management of the multiple-trauma patient with an associated spine injury. Spine, 2006, 31 (Suppl): 9-15.
- 8 张效良, 陆庄樵, 于进祥, 等. 自体骨髓移植促进骨愈合的实验研究. 中华创伤杂志, 1993, 9 (6): 326-329.

(收稿日期: 2006 - 12 - 08 本文编辑: 王宏)

# 快速富集骨髓干细胞复合羟基磷灰石三钙在胸腰椎骨折中的应用

唐晓波<sup>1</sup>, 王健<sup>1</sup>, 邱勇<sup>2</sup>, 胡勇<sup>1</sup>

(1. 建湖县人民医院, 江苏 建湖 224700; 2. 南京鼓楼医院)

关键词 骨折; 胸椎; 腰椎; 骨髓细胞

**Fleetness enrichment of bone-marrow stem cells combining with hydroxyapatite-tricalcium phosphate for the treatment of thoracolumbar fracture** TANG Xiao-bo<sup>\*</sup>, WANG Jian, QU Yong, HU Yong<sup>\*</sup> The People's Hospital of Jianhu, Jianhu 224700, Jiangsu, China

**Key words** Fractures; Thoracic vertebrae; Lumbar vertebrae; Bone marrow cells

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma, 2007, 20 (10): 710-711 www. zggszz. com

胸腰椎骨折在临床上是脊柱骨折的好发部位, 后路手术多采用椎弓根钉系统复位固定加椎板间或横突间植骨融合。后外侧融合是降低内固定失败、减少纠正丢失等并发症的有效措施。传统植骨采用自体髂骨, 也有运用同种异体骨, 但有一定并发症发生率。近年来有单纯运用骨髓移植治疗骨缺损或单纯运用羟基磷灰石三钙 (HA-TCP) 等替代材料, 但均未能推广应用。自 2005年 1月 - 2006年 7月运用快速富集骨髓干细胞复合 HA-TCP用于胸腰椎骨折融合 21例, 取得了良好的效果, 并与同期自体髂骨移植病例作对比, 报告如下。

## 1 材料与方法

**1.1 病例入选标准** 年龄在 25 ~ 50岁, 男女不限; 胸腰段骨折 (T<sub>2</sub>或 L<sub>1</sub>) 需行复位固定加融合手术的患者, 固定融合 2个节段 3个椎体; 神经功能 Frankel分级为 D、E级; 无慢性疾病及吸烟史; 术后不用石膏外固定。

**1.2 病例排除标准** 糖尿病、COPD、骨质疏松症、贫血等影响融合效果的疾病; 有内固定并发症, 如钉棒松动断裂等; 感染; 伴其他部位骨折影响早期下床者。

**1.3 分组情况** 将同期所有病例随机分为治疗组与对照组。治疗组采用快速富集骨髓干细胞复合 HA-TCP作为植骨替代

材料; 对照组采用自体髂骨移植。共 41例, 男 24例, 女 17例; 年龄 25 ~ 50岁, 平均 37.8岁; T<sub>2</sub>骨折 19例, L<sub>1</sub>骨折 22例。其中治疗组男 12例, 女 9例; T<sub>2</sub>骨折 9例, L<sub>1</sub>骨折 12例。对照组男 12例, 女 8例; T<sub>2</sub>骨折 10例, L<sub>1</sub>骨折 10例。骨折均为单椎体压缩骨折, 神经功能 Frankel分级为 D、E级。

## 1.4 治疗方法

**1.4.1 骨髓干细胞采集** 硬膜外麻醉后取仰卧位, 于双侧髂前上棘骨髓穿刺抽吸骨髓血, 骨穿针由浅入深, 旋转角度, 变换进针角度及进针点, 每一点抽取骨髓血不大于 50 ml。双侧共抽取骨髓血 350 ml, 放入预先置有抗凝剂的无菌血袋中。同时留取标本作干细胞浓度检测、涂片及细菌学检查。

**1.4.2 骨髓干细胞快速富集** 采集的骨髓血经过过滤, 去除脂肪、骨屑及血凝块。通过血液成份分离机, 利用密度梯度离心原理, 设定转速 3 500 r/min, 温度 4 ℃, 时间为 8 min。骨髓血分成 3部分: 上层为透明的液体, 略显黄色, 为血浆; 下层呈暗红色, 不透明, 绝大部分为红细胞; 在血浆与红细胞之间可见到薄薄的一层白色物质, 主要是单个核细胞 (间充质干细胞), 在超净工作台中予以分离这层, 收集到约 40 ~ 50 ml 干细胞悬液备用。留取标本作干细胞浓度检测。

**1.4.3 骨髓干细胞与 HA-TCP复合** 在手术室无菌条件下, 选择载体为颗粒状的 HA-TCP约 20 g, 与干细胞悬液搅拌均匀

合置于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中复合约 2 h后,使富集干细胞的骨髓血饱和吸附到多孔 HA-TCP内,细胞进入载体深层,利于贴壁生骨。

**1.4.4 手术** 两组均在连续硬膜外麻醉下经后路脊柱椎弓根钉复位固定,统一选用国产钛合金材料的钉棒系统椎弓根钉内固定(USS系统),固定 2个节段的 3个椎体后,治疗组行后外侧植入骨髓干细胞与 HA-TCP复合物融合,对照组取髓后上棘骨移植,植入部位包括椎板间、关节突和横突间。术前 1 d至术后 3 d,常规使用对骨髓无抑制作用的抗生素。术后 1.5个月戴腰围下床活动,3个月后可参加日常生活工作。

**1.4.5 术后随访观察** 所有患者于术后 1.5、3、6、12个月进行骨折部位 X线摄片或 CT检查,功能恢复评估,骨融合情况进行分析。融合状况采用影像学直接评估,Lenke等<sup>[1]</sup>字母分级法进行融合分级:A级,坚强融合伴双侧坚固的整块新生骨;B级,一般融合伴同侧大块新生骨和一侧薄层融合块;C级,可疑融合伴同侧薄层新生骨和一侧可疑假关节;D级,肯定无融合伴有肯定假关节伴双侧植骨块溶解吸收或双侧薄层融合块。在本组 A和 B级均为骨融合。

## 2 结果

**2.1 骨髓血的抽取方式和富集的有效性** 在双侧髂前上棘多点多方向抽取骨髓血 350 ml,将患者骨髓血离心前后的标本进行检测,采用流式细胞计数器,计数细胞总量并测定 CD<sub>34</sub>细胞含量。发现富集前后样本单核细胞浓度提高了 8倍,由原来的 10.3 × 10<sup>9</sup>/m<sup>3</sup>增至 80.5 × 10<sup>9</sup>/m<sup>3</sup>。

**2.2 细菌学检查和术后并发症** 富集前后标本细菌学检测均为阴性。治疗组所有病例术后 1周均无抽骨髓处疼痛,均未发生感染。对照组中 16例取骨区疼痛,持续时间 1~40 d,术后神经功能分级仍然为 D或 E级,无一例加重。术后 6个月所有患者日常生活自理。

**2.3 脊柱融合情况** 术后随访 6~12个月,术后均摄 X线片及 CT片。按 Lenke字母分级法融合分级:治疗组 A级融合 18例,B级融合 3例;对照组 A级融合 18例,B级融合 2例。两组融合率均为 100%,经卡方检验两组差异无统计学意义。

## 3 讨论

**3.1 快速富集骨髓干细胞技术的临床意义** 干细胞是一类具有无限自我复制,高度增殖和多向分化潜能的细胞群体,骨髓中存在一类能分化为多种间质成分的基质干细胞,被称为间充质干细胞,体外培养可分化成成骨细胞、成软骨细胞等。但在骨髓中含量较低,利用密度梯度离心原理将骨髓血进行快速富集,可使单位体积内骨髓干细胞浓度提高 8~10倍,整个过程可在手术室内 30 min完成。可直接应用于临床,且可用于急诊手术。无须体外培养扩增,不存在医学伦理问题,该方法安全、快速、方便,可在基层医院推广应用。

**3.2 HA-TCP作为载体的优点** 单纯骨髓干细胞植入体内

如没有载体易流失,成骨能力低。近几十年来,人工骨等生物材料的研究很多,如生物玻璃、羟基磷灰石、HA-TCP、磷酸钙、

磷酸钙和高分子材料等。作为细胞载体理想的人工骨材料应具备:良好的生物相容性,无毒,利于种子细胞黏附、增殖,不引起炎症反应;良好的生物降解性,材料降解率应与组织细胞生长长度相适应;具有三维立体多孔结构,孔径至少大于 100 μm,孔隙率最好达 90%以上,具有较高的面积体积比,有利于细胞生长;具有可塑性和一定的机械强度。HA-TCP材料是目前应用最好的人工骨替代材料。因为该材料化学成分和晶体结构与人体骨骼中的无机盐十分相似,并有高度的生物相容性<sup>[2]</sup>,其作为支架材料易于细胞的渗入及发育成骨,并可以自行降解。

**3.3 富集干细胞复合 HA-TCP的临床价值** 近年来,骨移植材料在脊柱融合中得到越来越多的应用,尽管自体骨移植被作为骨移植的金标准,但有许多与自体骨移植相关的问题,甚至常常掩盖了自体骨的长处。这些问题包括:供移植的骨量不足;术后供骨区并发症(疼痛、血肿、伤口问题、感染、神经损伤);增加手术时间;增加失血量;有潜在骨盆不稳定的因素疲劳骨折或髓区疝;异位骨化形成。自体骨移植后与其相关的并发症多达 29%。近年来有用 MSC与载体支架复合后制造的工程化骨治疗骨缺损的成功报道,但完成这种工程化骨需时 4~7周,显然不适用于急诊骨损伤病例<sup>[3]</sup>。

HA-TCP复合骨髓干细胞能达到与自体骨移植同样的融合效果,同时重点解决了 3方面问题:移植体来源问题,该复合物既为成骨提供骨细胞和诱导因子,又能为骨生长提供支架。兼具骨传导和骨诱导双重作用,有新鲜自体骨相似功能。其材料来源方便,避免了自体取骨的并发症。工程化骨需体外培养增殖,时间较长,而 HA-TCP复合骨髓干细胞移植一次手术完成,无论是否急诊均使用方便,不影响骨融合时间。医学伦理问题,该方法避免了骨髓干细胞体外培养增殖等,不涉及医学伦理问题。直接用于临床,无须准入,方便于基层临床推广。

HA-TCP复合骨髓干细胞用于脊柱融合是可行有效的,具有安全方便、疗效确切等优点,由此可推广到骨缺损的临床应用,从而寻找到一种全新的植骨替代材料。

## 参考文献

- 1 Lenke L, Bridwell KH. Adult spondylolisthesis with lysis. In: Bridwell KH, Dewald R. The textbook of spinal surgery. Philadelphia PA: Lippincott-Raven, 1997. 1269-1298.
- 2 杨洪,宁黔翼.生物硬组织材料羟基磷灰石——从天然到人工合成.生物学通报,2004,39(5):6-7.
- 3 潘锋,柏树令.骨组织工程 MSCs及其种植载体的研究进展.解剖科学进展,2004,10(4):375-378.

(收稿日期:2007-05-25 本文编辑:王玉蔓)