

骨髓间充质干细胞结合自体骨植骨治疗 四肢骨折术后骨不连 28 例

卢承印¹ 王朋涛¹ 张来福¹ 张海龙² 谢艳² 王孝辉²

[摘要] **目的:**探讨骨髓间充质干细胞结合自体骨植骨治疗四肢骨折术后骨不连的临床疗效。**方法:**回顾性分析 2016 年 1 月至 2019 年 12 月采用骨髓间充质干细胞结合自体骨植骨治疗的四肢骨折术后骨不连患者 28 例。其中男 19 例,女 9 例;年龄 24~63 岁,平均(46.31±7.47)岁。骨折部位:尺骨 8 例,肱骨 6 例,胫骨 12 例,股骨 2 例,均为单侧骨折。钢板螺钉固定 15 例,髓内针固定 9 例,外固定架固定 4 例。病程 8~15 个月,平均(8.49±1.37)个月。记录患者手术时间、术中出血量、骨折愈合时间及不良事件发生情况,末次随访时采用 Johner-Wruhs 评分对优良率进行评价。**结果:**本组患者均获得随访 6~24 个月,平均(13.46±3.73)个月。手术时间 55~110 min,平均(84.92±16.27)min;术中出血量 60~150 mL,平均(104.98±27.45)mL。所有患者骨不连均于术后 5~8 个月获得影像学愈合,平均(6.31±1.13)个月。1 例患者出现泌尿系感染,对症处理后治愈,其余无伤口感染,肌腱、神经、血管损伤,深静脉血栓以及钢板断裂等不良事件发生。末次随访时采用 Johner-Wruhs 评分标准评价优良率,结果显示:优 24 例,良 3 例,可 1 例,优良率为 96.4%。**结论:**骨髓间充质干细胞结合自体骨植骨治疗四肢骨折术后骨不连疗效确切,安全性高,值得临床推广应用。

[关键词] 骨不连;植骨;骨髓间充质干细胞;修复

[中图分类号] R683.4 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2021)09-0050-05

28 Cases of Clinical Observation of BMSCs Combined with Autologous Bone Graft in the Treatment of Nonunion after Limb Fracture Surgery

LU Chengyin¹ WANG Pengtao¹ ZHANG Laifu¹
ZHANG Hailong² XIE Yan² WANG Xiaohui²

¹ Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China;

² Henan Luoyang Orthopaedic Hospital, Luoyang 471002, Henan China.

Abstract Objective: To investigate the clinical effect of BMSCs combined with autologous bone graft in the treatment of nonunion after limb fracture surgery. **Methods:** From January 2016 to December 2019, 28 patients with nonunion after limb fracture surgery were treated with bone marrow mesenchymal stem cells combined with autogenous bone graft. There were 19 males and 9 females, aged from 24 to 63 years old, with an average of (46.31±7.47) years old. Fracture parts involved ulna with 8 cases, humerus with 6 cases, tibia with 12 cases, femur with 2 cases, all were unilateral fractures, 15 cases were fixed with plate and screw, 9 cases were fixed with intramedullary nail, 4 cases were fixed with external fixation. The course of disease ranged from 8 to 15 months, with an average of (8.49±1.37) months. The operation time, intraoperative blood loss, fracture healing time and adverse events were recorded. Johner-Wruhs score was used to evaluate the excellent and good rate at the last follow-up. **Results:** All patients were followed up for 6 to 24 months, with an average of (13.46±3.73) months. The operative time was 55 to 110 min, with (84.92±16.27) min on average. The intraoperative blood loss was 60 to 150 mL, with (104.98±27.45)mL on average. All patients obtained radiographic healing at 5 to 8 months

postoperatively, with (6.31±1.13) months on average. One patient developed urinary tract infection and was cured after symptomatic treatment. No other adverse events such as wound infection, tendon, nerve, vascular injury, deep vein thrombosis and plate rupture occurred. At the last follow-up, Johner-Wruhs score was used to evaluate the excellent and good rate. The results showed that 24 cases were excellent, 3

基金项目:河南省中医药科学研究专项课题(2018ZY2020)

河南省重点研发与推广专项(科技攻关)项目
(202102310855)

¹ 河南中医药大学(郑州,450046)

² 河南省洛阳正骨医院/河南省骨科医院

cases were good,1 case was fair,and the excellent and good rate was 96.4%. **Conclusion:** BMSCs combined with autogenous bone graft is effective and safe in the treatment of nonunion after limb fracture surgery,which is worthy of being promotion.

Keywords: nonunion;bone graft;bone marrow mesenchymal stem cells;repair

骨不连是四肢骨折术后一类常见并发症,发病率约 1.9%~20.0%^[1-2],其发病多与较严重的开放性、多发性骨折,术后感染,折端异常活动等因素有关^[3]。自体骨植骨是治疗骨不连最常用的方法,但此方法需从供区取骨植于受区,创伤较大,若骨缺损处仍无法愈合,将给患者心理和经济造成较大负担。骨髓间充质干细胞(Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells, BMSCs)作为一类具有较强成骨潜能的非造血干细胞,是促进骨折愈合最为理想的种子细胞^[3-4]。笔者自 2016 年 1 月至 2019 年 12 月采用骨髓间充质干细胞结合自体骨植骨治疗四肢骨折术后骨不连患者 28 例,取得了较好的临床效果,现报告如下。

1 临床资料

1.1 一般资料

本组患者男 19 例,女 9 例;年龄 24~63 岁,平均(46.31±7.47)岁。骨折部位:尺骨 8 例,肱骨 6 例,胫骨 12 例,股骨 2 例,均为单侧骨折。钢板螺钉固定 15 例,髓内针固定 9 例,外固定架固定 4 例。病程 8~15 个月,平均(8.49±1.37)个月。所有患者术前均签署知情同意书。

1.2 纳入标准

1)患者年龄 18~65 岁;2)四肢骨折术后 6~9 个月以上,X 线片复查显示骨折线可见,折端硬化、无进一步愈合迹象者;3)患者体格检查患肢仍有疼痛、畸形、纵轴叩击痛者;4)患者采用骨髓间充质干细胞结合自体骨植骨的方法治疗。

1.3 排除标准

1)感染性骨不连患者,需先控制感染者;2)术前血尿粪常规、肝肾功、凝血等检验结果异常,或合并有较重的内科疾病者;3)随访资料不完整者。

2 方法

2.1 手术方法

首先于术前 1 d 进行骨髓间充质干细胞采集,局部麻醉后,使用骨穿刺针髂前上棘处定位穿刺,根据缺损部位大小抽取一定量的骨髓血,将骨髓血无菌保存后交医院生物组织工程师通过原位组织再生医疗技术进行分离浓缩,最终形成类似果冻样血样标本。骨不连手术根据骨折部位常规麻醉,止血带止血下操作,沿髂棘区切开逐层显露髂棘,根据所需骨量取骨,并将其按受区所需形状修整备用。随后沿骨折原切口依次切开皮肤、皮下组织、筋膜,显露骨折端,清理折端软组织及硬化骨、打通髓腔,将果冻样骨髓间充质干细胞凝胶与所取备用髂骨混合,植入骨缺损内。根据固定物稳定情况予以增加或更换内固定,术中查看固定牢固后,冲洗缝合伤口。

2.2 观察指标

记录手术时间及术中出血量,术后每 4 周拍 X 线片复查患者骨折愈合情况,记录骨折影像学愈合时间,具体标准为 X 线片提示有云雾状骨痂形成且至少 3/4 皮质连续,骨折线模糊或消失^[4]。记录伤口感染、神经损伤、深静脉血栓、钢板断裂等不良事件发生情况,并于末次随访时采用 Johner-Wruhs 评分对优良率进行评价,评价标准见表 1。

表 1 Johner-Wruhs 疗效评价标准

项目		优	良	尚好	差
骨不连/感染	神经血管损伤	轻	中等	严重	
	内翻/外翻	2°~5°	6°~10°	>10°	
畸形	术中/再度弯曲	0°~5°	6°~10°	11°~20°	>20°
	旋转	0°~5°	6°~10°	11°~20°	>20°
	短缩/mm	0~5	6~10	11~20	>20
	膝关节	完全	>80%	>80%	>80%
运动范围	踝关节	完全	>80%	>80%	>80%
	距下关节	>80%	>80%	>80%	
	疼痛	无痛	有时	中等	严重
	步态	正常	正常	轻微跛行	明显跛行
	紧张的工作效率	能	受限	严重受限	不能

2.3 统计学方法

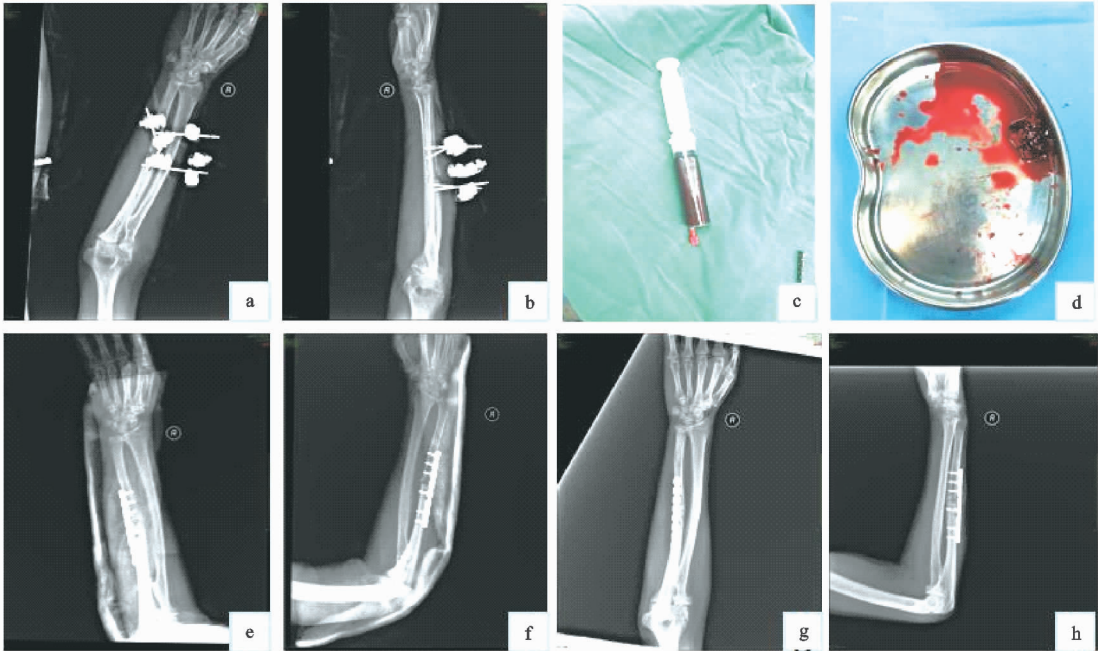
采用 SPSS21.1 统计软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料以频数和百分比表示。

3 结果

本组患者均获得随访 6~24 个月,平均(13.46±3.73)个月,所有患者骨不连均于术后 5~8 个月获得

影像学愈合,平均 (6.31 ± 1.13) 个月。手术时间 $55\sim110$ min,平均 (84.92 ± 16.27) min,术中出血量 $60\sim150$ mL,平均 (104.98 ± 27.45) mL。1例患者出现泌尿系感染,对症处理后治愈,其余无伤口感染,肌腱、神

经、血管损伤,深静脉血栓以及钢板断裂等不良事件发生。末次随访时采用 Johner-Wruhs 评分标准评价优良率,结果显示:优24例,良3例,可1例,优良率为96.4%。典型病例影像学资料见图1-图4。



(a)(b) 外固定架固定术后9个月X线正侧位片显示骨不连; (c)(d) 分离浓缩后果冻样骨髓间充质干细胞标本; (e)(f) 骨髓间充质干细胞结合自体骨植骨术后第2天X线正侧位片显示内固定稳定、骨折对位良好; (g)(h) 术后6个月复查X线正侧位片显示骨折愈合良好,骨折线已模糊不清

图1 患者1,男,62岁,收割机划伤致右尺骨骨折术后骨不连



(a)(b) 钢板内固定术后12个月X线正侧位片显示骨不连; (c)(d) 更换钢板内固定,骨髓间充质干细胞结合自体骨植骨术后第3天X线正侧位片显示内固定稳定,骨折对位良好; (e)(f) 术后1a复查X线正侧位片显示骨折愈合良好,去除内固定

图2 患者2,男,32岁,车祸致左胫骨骨折术后骨不连

4 讨论

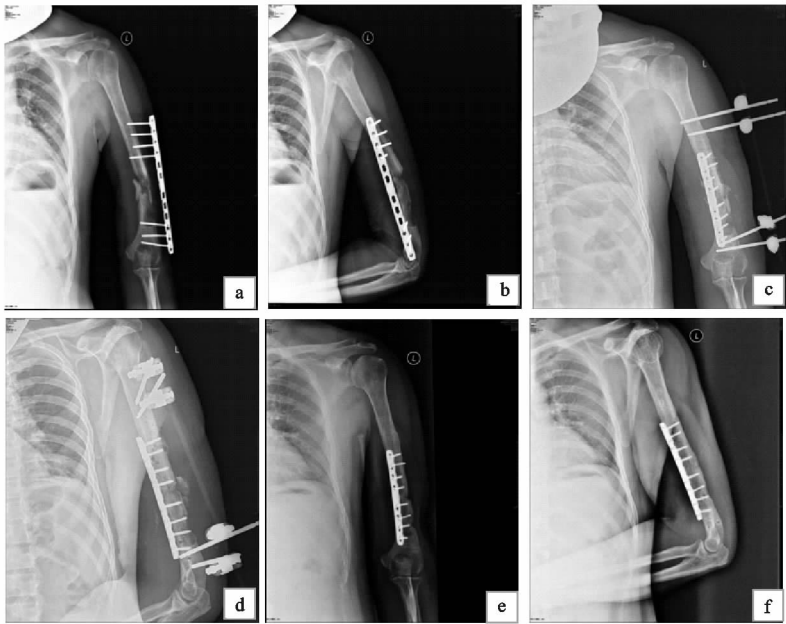
骨不连患者大多经历过较长时间的治疗以及多次手术,反复外科创伤造成的疼痛及功能障碍给患者造

成巨大的疾病痛苦和心理压力,因此骨不连一直是骨科领域研究的难点和热点。国内一般将骨不连定义为骨折治疗后6个月以上仍未愈合,美国食品和药物监



(a)(b) 钢板内固定术后9个月X线正侧位片显示骨不连；(c)(d) 骨髓间充质干细胞结合自体骨植骨增加两根螺钉固定后第3天X线正侧位片显示内固定稳定，骨折对位良好；(e)(f) 术后6个月复查X线正侧位片显示骨折愈合良好

图 3 患者 3,男,56 岁,挤伤致左股骨骨折术后骨不连



(a)(b) 钢板螺钉固定术后14个月X线正侧位片显示骨不连；(c)(d) 更换钢板内外固定，骨髓间充质干细胞结合自体骨植骨术后第3天X线正侧位片显示内外固定稳定，骨折对位良好；(e)(f) 术后6个月复查X线正侧位片显示骨折愈合良好

图 4 患者 4,男,39 岁,挤伤致左肱骨骨折术后骨不连

督管理局(Food and Drug Administration,FDA)则将其定义为骨折治疗后至少 9 个月未愈合,或在影像学上 3 个月以内没有进一步愈合迹象^[5]。骨不连治疗的关键在于解剖复位、坚固固定以及恢复其成骨能力,目前临床上对该病的治疗以手术为主,其方法有切开内固定^[6]、植骨^[7]、带血管蒂骨瓣移植^[8]、经皮骨髓移植^[9]以及多种方法联合应用等。其中自体髂骨植骨仍是最常用的方法,与其他方法相比具有手术操作简单、成骨作用强、无排异反应等优势^[10]。但该方法也具有

一定局限性,如供区疼痛、出血、感染等^[11],如果骨折仍无法愈合,医患双方都难以接受。因此,如何增强骨愈合潜力,提高骨折愈合率,成为临床医师研究的重点。骨折的愈合依赖于成骨细胞、成骨诱导刺激和成骨传导基质支架三者的相互作用^[12],近年来,随着组织工程技术及干细胞研究领域的不断深入,骨髓间充质干细胞逐渐开始应用于骨不连的修复中^[13]。研究表明,骨髓间充质干细胞能够在不同的诱导因素下向软骨细胞和成骨细胞转化,通过促进成骨和血管生成

在治疗骨不连方面发挥了关键作用^[14]。张中禹等^[15]采用自体骨髓间充质干细胞经皮治疗骨折延迟愈合或不愈合 69 例,结果显示治愈率达 94.2%。陈克伟等^[16]对比经皮自体骨髓移植与自体髂骨植骨治疗胫骨骨折延迟愈合或不愈合的疗效,结果显示经皮自体骨髓移植疗效确切,且并发症较少。基于此,笔者采用骨髓间充质干细胞结合自体髂骨植骨对四肢骨折术后骨不连患者进行治疗。

本研究结果显示,所有骨不连患者均于术后 5~8 个月获得影像学愈合,平均 6.3 个月。1 例患者出现泌尿系感染,对症处理后治愈,其余无伤口感染,肌腱、神经、血管损伤,深静脉血栓及钢板断裂等不良事件发生。末次随访时采用 Johner-Wruhs 评分标准评价,优良率结果显示:优 24 例,良 3 例,可 1 例,优良率为 96.4%。笔者认为骨髓间充质干细胞结合自体骨植骨治疗四肢骨折术后骨不连,具有以下优点:1)自体骨髓间充质干细胞经过提取、分离、提纯、培养及浓缩等处理后与自体髂骨共同植于骨不连部位,理论上能够促进骨折的愈合速度,提高愈合率;2)自体骨髓间充质干细胞取材方便,且不存在伦理问题及排异反应;3)通过两种方法的结合,缩短骨不连愈合时间,从而降低患者费用,减轻其经济负担。虽然骨髓间充质干细胞结合自体骨植骨治疗四肢骨不连具有显著的治疗效果,但仍有一些问题需要研究,例如骨髓间充质干细胞的提取、培养和浓缩的方法以及最佳注射时间;对于年龄较大的患者,可能无法获得足够数量和活力的干细胞,如何保证其治疗效果也是今后需要研究的方向。

综上所述,骨髓间充质干细胞结合自体骨植骨治疗四肢骨折术后骨不连疗效确切,安全性高,值得临床推广应用。

参考文献

- [1] ZURA R, WATSON J T, EINHORN T, et al. An inception cohort analysis to predict nonunion in tibia and 17 other fracture locations[J]. *Injury*, 2017, 48(6): 1194-1203.
- [2] MILLS L A, AITKEN S A, SIMPSON A H R W. The risk of non-union per fracture: current myths and revised figures from a population of over 4 million adults[J]. *Acta Orthop*, 2017, 8(4): 434-439.
- [3] 雷明星, 张里程, 林峰, 等. 骨不连风险因素的最新研究进展[J]. *中国骨与关节杂志*, 2018, 7(7): 514-518.
- [4] FISHER J S, KAZAM J J, FUFA D, et al. Radiologic e-

valuation of fracture healing[J]. *Skeletal Radiol*, 2019, 8(3): 349-361.

- [5] RODRIGUEZ-MERCHAN E C, FORRIOL F. Nonunion: general principles and experimental data[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2004, 419: 4-12.
- [6] HOLLO D, KOLLING C, AUDIGÉ L, et al. Plating and cortical bone grafting of clavicular nonunions: clinical outcome and its relation to clavicular length restoration[J]. *JSES Int*, 2020, 4(3): 508-514.
- [7] 屠永刚, 任绍东, 戚蕉妹, 等. 两种植骨方式治疗骨延迟愈合和骨不连的比较[J]. *中国矫形外科杂志*, 2020, 28(8): 717-720.
- [8] ZAIDENBERG E E, JUAREZ CESA F, PASTRANA M J, et al. Pedicled vascularized bone graft of the distal radius for recalcitrant nonunion of the distal humerus[J]. *J Orthop Trauma*, 2018, 2(10): e394-e399.
- [9] 王昕, 干耀恺, 赵杰, 等. 新型骨髓干细胞快速筛选-富集-复合系统治疗四肢骨不连[J]. *中华创伤骨科杂志*, 2018, 20(2): 93-98.
- [10] 叶浩波, 孙亮, 薛汉中, 等. 双钢板内固定联合自体髂骨植骨在股骨骨不连中的应用现状及研究进展[J]. *中华骨科杂志*, 2020, 40(16): 1118-1125.
- [11] XU G P, ZHANG X F, SUN L, et al. Current and future uses of skeletal stem cells for bone regeneration[J]. *World J Stem Cells*, 2020, 2(5): 339-350.
- [12] 刘国铭, 王钦奋, 林克凤, 等. 全身应用神经生长因子对大鼠胫骨干骨折早期愈合作用及骨形态发生蛋白 2 和血管内皮生长因子表达的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2020, 24(29): 4680-4685.
- [13] PEREZ J R, KOUROUPIS D, LI D J, et al. Tissue engineering and cell-based therapies for fractures and bone defects[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2018, 31(6): 105.
- [14] ZHANG L, JIAO G, REN S, et al. Exosomes from bone marrow mesenchymal stem cells enhance fracture healing through the promotion of osteogenesis and angiogenesis in a rat model of nonunion[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 38.
- [15] 张中禹, 谭勇海, 鞠昌军, 等. 自体骨髓间充质细胞移植治疗骨折延迟愈合或不愈合 69 例[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2018, 26(4): 59-61.
- [16] 陈克伟, 程少文, 顾运涛, 等. 自体骨髓移植治疗胫骨中下段骨折延迟愈合或不愈合的疗效研究[J]. *中国骨与关节损伤杂志*, 2017, 32(6): 645-646.

(收稿日期: 2021-04-15)