doi:10.11659/jjssx.03E020113

·临床研究·

个体化组织工程骨与同种异体骨修复人长骨缺损的临床疗效和安全性对比

冯晓东,程芳芳,郭 军,王喜良,周荣兴 (内蒙古医科大学第二附属医院创伤二科,内蒙古 呼和浩特 010030)

[摘 要] **目的** 比较个体化组织工程骨与同种异体骨修复人长骨缺损的临床疗效和安全性。**方法** 收集2010年3月至2015年2月因四肢长骨缺损于我院行个体化组织工程骨或同种异体骨植入的62例患者的临床资料,其中个体化组织工程骨植入32例(观察组),同种异体骨植入30例(对照组),比较2组患者的临床疗效、安全性及血液学指标。**结果** 观察组骨愈合时间短于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。2组患者术后2 d体温和局部皮肤温度均较术前升高,且对照组高于观察组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。对照组术后2 d患肢植骨区周径大于术前和观察组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。与术前相比,2组患者术后1周尿酸(UA)、肌酐(Cr)、血沉(ESR)、白细胞计数(WBC)、中性粒细胞百分比(NEU%)、淋巴细胞百分比(NLR)、C反应蛋白(CRP)、白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、免疫黏附抑制因子(FEIR)以及免疫复合物花环率(RBC-ICR)均升高,白介素-4(IL-4)、转化生长因子-β(TGF-β)、免疫球蛋白A(IgA)、免疫球蛋白G(IgG)、免疫球蛋白M(IgM)、免疫黏附促进因子(RFER)以及红细胞C3b受体花环率(RBC-C3bR)均降低,且观察组升高/降低幅度小于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。以上指标术后1~18个月随访中虽有波动但均逐渐恢复至术前水平。**结论** 个体化组织工程骨修复人长骨缺损较同种异体骨成骨能力更优异,骨愈合时间明显较短,其近中长期的生物安全性更可靠。

[关键词] 个体化组织工程骨;同种异体骨;长骨缺损;临床疗效;安全性;骨缺损修复;骨移植材料

[中图分类号] R683.4 [文献标识码] A [收稿日期] 2020-03-19

Comparison on clinical efficacy and safety of individualized tissue-engineered bone and allogenic bone in repairing human long bone defects

FENG Xiao-dong, CHENG Fang-fang, GUO Jun, WANG Xi-liang, ZHOU Rong-xing (Second Department of Traumatology, Second Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Huhhot Inner Mongolia 010030, China)

Abstract: Objective To compare the clinical efficacy and safety of individualized tissue-engineered bone and allogenic bone in repairing human long bone defects. **Methods** The clinical data of 62 patients with long bone defects of limbs treated by individualized tissue-

[通信作者] 周荣兴,E-mail:13847135763@163.com

[14] Blackmur JP, Maitra NU, Marri RR, et al. Analysis of factors' association with risk of postoperative urosepsis in patients undergoing ureteroscopy for treatment of stone disease[J]. J Endourol, 2016, 30(9): 963-969. doi:10.1089/end.2016.0300.

[15] Deng T, Liu B, Duan X, et al. Antibiotic prophylaxis in ureteroscopic lithotripsy: a systematic review and meta-analysis of comparative studies[J]. BJU Int, 2018, 122(1): 29-39. doi:10.1111/bju.14101.

[16] 徐郁颖,陈云峰,江 涌. 上段输尿管结石合并感染的危险因素和病原学分析[J]. 重庆医学, 2019, 48(7): 1210-1212. doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.07.033.

[17] Wolf JJ, Bennett CJ, Dmochowski RR, et al. Best practice policy statement on urologic surgery antimicrobial prophylaxis2016[ED/OL]. http://www.auanet.org/guidelines/antimicrobial-prophylaxis.2017.

[18] 中国医促会泌尿健康促进分会,中国研究型医院学会泌尿外科学专业委员会. 经皮肾镜碎石术安全共识[J]. 现代泌尿外科杂志, 2020, 25(4): 296-301. doi:10.3969/j.issn.1009-8291.2020.04.003.

[19] Ruhayel Y, Tepeler A, Dabestani S, et al. Tract sizes in miniaturized percutaneous nephrolithotomy: a systematic review from the European Association of Urology urolithiasis guidelines panel[J]. Eur Urol, 2017, 72(2): 220-235. doi:10.1016/j.eururo.2017.01.046.

[20] 王 刚,龚晋迁,张军卫,等. 微创经皮肾镜取石术与输尿管镜钬激光碎石术治疗输尿管上段嵌顿结石合并感染的疗效对比[J]. 川北医学院学报, 2017, 32(3): 433-435. doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2017.03.033.

[21] 吴佳成,姜 力,陆雅君. 经尿道输尿管镜治疗输尿管结石后发生输尿管狭窄的危险因素分析[J]. 国际泌尿系统杂志, 2019, 39(3): 505-509. doi:10.3760/cma.j.issn.1673-4416.2019.03.034.

[22] 郭 熊,杜 丹. 经皮肾镜碎石取石术穿刺引导新进展[J]. 中华腔镜泌尿外科杂志(电子版), 2020, 14(2): 149-152. doi:10.3877/cma.j.issn.1674-3253.2020.02.016.

[23] 冯 瑞,李中兴,葛广成,等. 经腹腹腔镜与微通道经皮肾镜治疗输尿管上段结石比较性研究[J]. 微创泌尿外科杂志, 2019, 8(3): 163-167. doi:10.19558/j.cnki.10-1020/r.2019.03.005.

[24] 李文威. 不同术式对复杂性输尿管上段结石治疗效果的比较[J]. 西南国防医药, 2017, 27(1): 46-48. doi:10.3969/j.issn.1004-0188.2017.01.017.

(编辑:左艳芳)

engineered bone graft and allogenic bone graft in our hospital from March 2010 to February 2015 were collected, of which 32 patients were treated by individualized tissue-engineered bone graft (the observation group), and 30 cases were treated by allogenic bone graft (the control group). The clinical efficacy, safety and hematological indexes between the two groups were compared. **Results** The time of bone healing in the observation group was shorter than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The body temperature and local skin temperature of the patients 2 days after surgery in the two groups were higher than those before surgery, and the body temperature and local skin temperature in the control group was higher than those in the observation group, the differences were statistically significant ($P<0.05$). The circumference of the bone graft area in the control group was larger than those before operation and in the observation group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The levels of uric acid (UA), creatinine (Cr), erythrocyte sedimentation rate(ESR), white blood cell count(WBC), neutrophils percentage(NEU%), neutrophil to lymphocyte ratio(NLR), C-reactive protein (CRP), interleukin-6(IL-6), tumor necrosis factor-α (TNF-α), rosette forming inhibitor rate (FEIR), and red blood cell immune complex rate (RBC-ICR) 1 week after operation were all higher than those before operation, interleukin-4(IL-4), transforming growth factor-β (TGF-β), immunoglobulinA(IgA), immunoglobulin G(IgG), immunoglobulin M(IgM), rosette forming enhancement rate (RFER), and red blood cell-C3bR rosette rate(RBC-C3bR) were all lower than those before operation, and the increasing and decreasing range in the observation group were less than those in the control group, the differences were statistically significant ($P<0.05$). Although all indexes above had fluctuations from 1 to 18 months after operation, they gradually recovered to the preoperative levels. **Conclusion** Individualized tissue-engineered bone for repairing human long bone defects has better osteogenic ability than allogenic bone, with significantly shorter bone healing time, and more reliable biological safety in the near-medium and long-term.

Keywords: individualized tissue-engineered bone; allogenic bone; long bone defects; clinical efficacy; safety; bone defect repair; bone graft meterials

临床上,由创伤、感染、骨肿瘤切除、先天畸形等各种原因所致的骨缺损在骨科领域尤为常见。几个世纪以来骨缺损修复一直是骨科临床、生物力学、材料学以及组织工程学等领域共同关注并不断深入研究的重要课题。传统骨修复材料均有不同程度的缺点,其中自体骨因取骨导致患者创伤和痛苦增加,且取骨有限,难以满足大段骨移植的要求;同种异体骨有潜在的疾病传播风险,也容易出现免疫排斥反应而导致并发症;金属假体则存在断裂、松动、不可降解、组织相容性差等问题[1-3]。鉴于此,骨组织工程技术应运而生,组织工程骨被广泛应用于临床且其应用领域不断拓宽,然而目前关于组织工程骨修复骨缺损的报道存在纳入临床病例数少、随访时间不够长、甚至未与传统骨移植材料进行对比等局限性,导致无法完全确定组织工程骨的长期临床疗效和生物安全性。因此,本研究收集 2010 年 3 月至 2015 年 2 月因四肢长骨缺损于我院行个体化组织工程骨或同种异体骨植入的 62 例患者的临床资料,通过比较 2 种植入材料治疗四肢长骨缺损的中长期临床疗效,旨在为组织工程骨的广泛运用提供更可靠的临床依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料

本组四肢长骨缺损患者 62 例,其中个体化组织工程骨植入 32 例(观察组),年龄 6 ~ 57 岁;同种异体骨植入 30 例(对照组),年龄 7 ~ 58 岁。患者的性别、年龄、骨缺损原因以及骨缺损部位组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表 1。纳入标准:各种长骨良性骨肿瘤和瘤样病变、骨折后骨不连、骨巨细胞瘤手术刮除所致骨缺损和创伤后导致的骨缺损;符合骨移植标准;骨移植材料为个体化组织工程骨或同种异体骨;临床病历资料完整;随访时间不少于 48 个月。排除标准:年龄 60 岁以上;伴发重要脏器功能不全、活动性感染、其他严重基础性疾病以及精神疾病;各种传染病、恶性骨肿瘤等导致的骨关节损害;嗜酒、吸毒。患者及家属对手术均知情同意,本研究经我院医学伦理委员会审核批准。

1.2 个体化组织工程骨制备

术前 2 周行常规检查以初步排除抽取骨髓的禁忌证,在无菌条件下,于患者两侧髂前上嵴穿刺抽取骨髓

表 1 患者临床资料比较(例)

组别	n	性别		年龄		骨缺损原因				骨缺损部位			
		男	女	≤18 岁	>18 岁	纤维结构不良	单房性骨囊肿	骨不连	骨巨细胞瘤异体骨移植术后复发	股骨	肱骨	胫骨	桡骨
观察组	32	18	14	21	11	11	15	4	2	13	9	7	3
对照组	30	17	13	20	10	10	13	5	2	12	9	7	2
χ^2		0.001		0.008				0.237				0.176	
P		0.974		0.931				0.971				0.981	

10 mL,采用密度梯度离心法获取有核细胞并接种到培养皿上贴壁培养,为获得足量的骨髓间充质干细胞(human bone mesenchymal stem cells,hBMSCs),需在体外成骨诱导培养基内培养、扩增。按照美国组织库协会制定的相关生物标准[4],将捐献的人体骨组织制备成脱钙骨基质(demineralized bone matrix,DBM)作为组织工程骨的支架材料,根据影像学检查结果估算所需要的量,在患者自体血清中浸泡 2 ~3 d,用紫外灯灭菌后保存于无菌柜中待用。对诱导分化后含有 hBMSCs 的悬液进行细胞计数并调整浓度为 2.0×10^6/mL,取 1 mL滴加至备用的支架材料上,使之完全浸湿,之后置于饱和湿度、5% CO_2、37 ℃的培养箱内孵育不少于 4 h,细胞贴壁后加入适量成骨条件培养液,继续培养 5 ~7 d,使组织块构建完整。术前同期对构建的组织工程骨块进行细菌、真菌培养检查。

1.3 手术方法

术前对患者进行体格检查、血液学检查以及患肢局部检查,进而明确周围组织和骨病变部位之间的关系,对病变部位的大小和体积进行测量,核对所需植骨量。所有手术均由同一组医护人员采用相似方案完成。患者均行全身麻醉或神经阻滞麻醉,常规消毒、铺巾,按骨科手术方法显露病灶区,将骨髓腔内的病变和硬化组织刮除干净以确保骨髓腔开放,之后依次经苯酚、95% 乙醇灭活以及蒸馏水浸泡后注入 37 ℃生理盐水以测量囊腔内体积并反复冲洗,尽量灭活病变组织以避免复发,之后即可植入同种异体骨或备用的组织工程骨,注意松紧适宜,保证骨组织和骨膜血液供应,邻近关节处则应避免损伤关节软骨。植骨结束后彻底止血,常规引流,检查无误后关闭创口,视病情采取合适的内固定,必要时进行外固定。术后行抗生素常规治疗,术后 48 ~72 h 拔除引流管,术后第 1 天根据患者实际情况进行适宜的功能锻炼,分别于术后 3 周和术后 6 周开始四肢的负重能力锻炼,术后 1 年视患者骨愈合情况决定是否行内固定取出。

1.4 疗效评估

记录患者骨愈合时间、术后 1 年骨愈合评分。骨愈合标准:经 X 射线片和 CT 等影像学检查无明显未修复透光区,骨缺损区植入的骨修复材料与宿主骨的新生骨组织基本融合,骨形态恢复至正常,骨皮质达到邻近正常骨皮质厚度,能进行日常活动,并可避免骨折。参照 Sanghani-Kerai 等[5]提出的方法进行骨愈合评分,术后 1 年对患者的骨缺损区行 X 射线片检查以评价移植骨的愈合情况。评分标准:有连续性骨小梁、与正常骨组织分界不清记 3 分;无定形骨形成记 2 分;仅有少量不连续骨小梁形成记 1 分;无明显可见骨质形成记 0 分。

术后 1 年采用 Enneking 肢体系统功能等级计分标准和日常生活功能评价量表(activities of daily living,ADL)评价患者术后功能恢复情况[6-7]。Enneking 肢体系统功能等级计分标准:上、下肢功能评分均包括肢体疼痛、功能活动、自我感受,另外上肢功能评分还有腕关节活动度、工作能力、精细操作,下肢功能评分还有支具使用、行走能力、步态改变;每项 6 个等级,分别对应 0 ~5 分,满分 30 分,积分除以满分即为肢体功能所达到正常功能的百分比。ADL:评价上肢的有 11 项,评价下肢的有 10 项,如患肢能执行所有肢体活动即为日常功能无任何受限;若不能执行 1 ~3 项日常活动,为轻微受限;若不能执行 4 ~7 项活动,为中等受限;若无法完成 8 项及以上活动则为严重受限。

1.5 安全性评估

观察组术前同期对组织工程骨块进行细菌、真菌培养。术前和术后 1 周内,监测患者体温、脉搏、呼吸、血压等基本生命体征,患肢植骨区切口愈合、局部皮肤温度变化、周径、血运、感觉、神经反射以及不良反应。对患者进行长期随访,以病理检查和影像学资料评估致瘤性以及复发情况。

1.6 血液学指标检测

术前和术后 1 周、1 个月、18 个月均采集患者空腹外周肘静脉血 15 mL,分别用于检测患者血常规、血沉(erythrocyte sedimentation rate,ESR)及肝肾功能;采用酶联免疫吸附法检测血清中 C 反应蛋白(C-reactive protein,CRP)、白介素-6(interleukin-6,IL-6)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)、白介素-4(interleukin-4,IL-4)、转化生长因子-β(transforming growth factor-β,TGF-β)、免疫球蛋白 A(immunoglobulin,IgA)、免疫球蛋白 M(immunoglobulin,IgM)、免疫球蛋白 G(immunoglobulin,IgG);采用郭峰[8]的酵母菌花环法检测红细胞免疫指标:免疫黏附促进因子(rosette forming enhancement rate,RFER)、红细胞 C3b 受体花环率(red blood cell-C3bR rosette rate,RBC-C3bR)、免疫黏附抑制因子(rosette forming inhibitor rate,REIR)、免疫复合物花环率(red blood cell immune complex rate,RBC-ICR)。

1.7 统计学方法

应用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析,计数资料以率(%)表示,行 χ^2 检验。计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,2 组间比较采用独立 t 检验,组内不同时间点比较采用配对 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床疗效比较

患者术后 1 年骨愈合评分、Enneking 评分以及 ADL 肢体功能评价组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$);观察组骨愈合时间较对照组短,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 临床疗效比较

组别	n	骨愈合时间(月)	骨愈合评分(分)	Enneking 评分(分)	ADL 肢体功能评价[例(%)] 无任何受限	轻微受限
观察组	32	3.41±1.68	2.59±0.73	27.16±2.29	32(100)	0(0)
对照组	30	6.07±2.52	2.45±0.69	26.81±2.23	29(96.67)	1(3.33)
χ^2/t		4.919	0.775	0.609	1.084	
P		0.000	0.441	0.545	0.298	

2.2 安全性比较

观察组术前同期组织工程骨块均无细菌和真菌生长。所有患者全身无不良反应,切口无疼痛、红肿、窦道及分泌物等炎症反应,均为Ⅰ期愈合。术后 3 年观察组有 1 例患者因外伤导致左股骨骨折,行骨折复位钢板螺钉内固定术后愈合良好,其余患者治疗效果均较好,无复发和恶变发生。对照组有 4 例患者出现术后切口分泌物增多,局部皮肤温度高甚至肢体肿胀,采取对症治疗后切口均愈合,其余患者切口均为Ⅰ期愈合,无不良反应发生。对照组术后有 1 例患者术区反复隐痛不适并伴发膝关节外翻轻度受限。

患者术前体温、脉搏、呼吸、收缩压、舒张压、患肢植骨区周径、局部皮肤温度以及术后 2 d 脉搏、呼吸、收缩压、舒张压组间比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。2 组患者术后 2 d 脉搏、呼吸、收缩压、舒张压与术前相比,差异均无统计学意义($P>0.05$)。观察组术后 2 d 患肢植骨区周径与术前相比差异无统计学意义($P>0.05$);对照组术后 2 d 患肢植骨区周径大于观察组及术前,差异均有统计学意义($P<0.05$)。2 组患者术后 2 d 体温和局部皮肤温度均较术前升高,且对照组高于观察组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

2.3 肝肾功能结果比较

患者谷草转氨酶(aspartate aminotransferase,AST)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase,ALT)及碱性磷酸酶(alkaline phosphatase,ALP)水平组内不同时间点及组间比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。同一时间点,2 组患者尿酸(uric acid,UA)、肌酐(creatinine,Cr)水平比较差异无统计学意义($P>0.05$);术后 1 周 2 组患者 UA 和 Cr 均较术前升高,且观察组升高幅度小于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);术后 1~18 个月虽有波动,但与术前相比差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 4。

表 3 安全性比较($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	观察组($n=32$)	对照组($n=30$)	t	P
体温(℃)	术前	36.57±0.42	36.61±0.44	0.366	0.715
	术后 2 d	36.93±0.58*	37.32±0.61*	2.581	0.012
脉搏(次/分)	术前	86.97±7.26	87.13±7.19	0.087	0.931
	术后 2 d	87.85±7.34	88.01±7.37	0.086	0.932
呼吸(次/分)	术前	19.74±1.02	19.86±1.05	0.456	0.650
	术后 2 d	20.23±1.13	20.35±1.16	0.413	0.681
收缩压(mmHg)	术前	108.67±14.32	110.23±14.56	0.425	0.672
	术后 2 d	105.93±12.75	106.18±13.27	0.076	0.940
舒张压(mmHg)	术前	65.89±9.43	66.32±9.61	0.178	0.859
	术后 2 d	67.45±10.28	68.51±10.37	0.404	0.688
患肢植骨区周径(cm)	术前	30.78±2.63	30.82±2.67	0.059	0.953
	术后 2 d	31.24±2.71	32.96±2.85*	2.436	0.018
局部皮肤温度(℃)	术前	33.52±0.41	33.54±0.42	0.190	0.850
	术后 2 d	34.29±0.47*	35.06±0.53*	6.061	0.000

*:与术前比较,$P<0.05$

表 4 肝肾功能结果比较($\bar{x}\pm s$)

指标	时间	观察组($n=32$)	对照组($n=30$)	t	P
AST(IU/L)	术前	27.63±5.48	27.71±5.69	0.056	0.955
	术后 1 周	28.59±5.72	29.04±5.83	0.307	0.760
	术后 1 个月	28.85±5.81	29.11±5.85	0.176	0.861
	术后 18 个月	28.13±5.62	28.46±5.71	0.229	0.819
ALT(IU/L)	术前	22.35±6.27	21.93±6.14	0.266	0.791
	术后 1 周	21.27±5.89	20.86±5.78	0.276	0.783
	术后 1 个月	20.98±5.82	20.47±5.73	0.347	0.729
	术后 18 个月	22.06±6.15	21.79±6.08	0.174	0.863
ALP(IU/L)	术前	262.35±115.78	258.96±113.82	0.116	0.908
	术后 1 周	257.61±114.92	253.48±113.55	0.142	0.887
	术后 1 个月	251.47±114.69	249.79±112.67	0.058	0.954
	术后 18 个月	255.83±116.07	256.12±116.34	0.010	0.992
UA(μmol/L)	术前	248.37±59.18	241.23±58.34	0.478	0.634
	术后 1 周	296.54±67.26*	293.87±66.69*	0.157	0.876
	术后 1 个月	269.52±63.74#	268.35±62.98#	0.073	0.942
	术后 18 个月	258.64±60.83#	255.73±59.96#	0.190	0.850
Cr(μmol/L)	术前	45.62±13.47	44.53±12.96	0.324	0.747
	术后 1 周	63.58±20.76*	62.69±20.34*	0.170	0.865
	术后 1 个月	44.37±12.89#	43.95±12.78#	0.129	0.898
	术后 18 个月	46.25±13.61#	45.88±13.54#	0.107	0.915

*:与术前比较,$P<0.05$;#:与术后 1 周比较,$P<0.05$

2.4 血沉和血常规结果比较

与术前相比,2 组患者术后 1 周 ESR、白细胞计数(white blood cell count,WBC)、中性粒细胞百分比(neutrophils percentage,NEU%)以及淋巴细胞百分比(neutrophil to lymphocyte ratio,NLR)均升高,且观察组升高幅度小于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。上述指标在术后 1~18 个月的随访中均逐渐恢复至正常水平,见表 5。

表5 ESR和血常规结果比较($\bar{x}\pm s$)

指标	时间	观察组($n=32$)	对照组($n=30$)	t	P
WBC($\times10^9$)	术前	5.49±1.26	5.52±1.31	0.092	0.927
	术后1周	9.72±2.03*	14.89±2.56*	8.839	0.000
	术后1个月	6.07±1.31#	6.18±1.37#	0.323	0.748
	术后18个月	5.82±1.34#	5.94±1.37#	0.349	0.729
NEU%(%)	术前	46.53±5.78	45.92±5.69	0.418	0.677
	术后1周	57.48±7.36*	66.71±8.95*	4.447	0.000
	术后1个月	48.21±5.85#	47.63±5.80#	0.392	0.697
	术后18个月	47.36±5.82#	46.95±5.76#	0.279	0.782
NLR(%)	术前	29.86±7.69	30.14±7.72	0.143	0.887
	术后1周	38.85±10.14*	47.93±13.54*	3.001	0.004
	术后1个月	30.69±7.78#	31.48±7.85#	0.398	0.692
	术后18个月	30.47±7.59#	31.05±7.64#	0.300	0.765
ESR(mm/h)	术前	5.38±5.72	5.43±5.76	0.034	0.973
	术后1周	9.24±6.53*	13.38±7.54*	2.315	0.024
	术后1个月	7.15±5.94#	7.29±5.97#	0.093	0.927
	术后18个月	6.76±5.81#	7.02±5.85#	0.176	0.861

*:与术前比较,$P<0.05$;#:与术后1周比较,$P<0.05$

2.5 炎症因子比较

与术前比较,2组患者术后1周CRP、IL-6及TNF-α升高,IL-4和TGF-β降低,且观察组升高/降低幅度小于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。上述指标在术后1~18个月的随访中均逐渐恢复至术前水平,见表6。

表6 炎症因子比较($\bar{x}\pm s$)

指标	时间	观察组($n=32$)	对照组($n=30$)	t	P
CRP(mg/dL)	术前	0.58±0.34	0.62±0.35	0.456	0.650
	术后1周	4.27±1.69*	6.83±2.41*	4.868	0.000
	术后1个月	0.76±0.48#	0.78±0.52#	0.157	0.875
	术后18个月	0.69±0.45#	0.71±0.46#	0.173	0.863
IL-6(ng/L)	术前	5.83±0.69	5.92±0.71	0.506	0.615
	术后1周	14.56±1.72*	21.65±2.34*	13.654	0.000
	术后1个月	6.17±0.80#	6.24±0.82#	0.340	0.735
	术后18个月	6.08±0.77#	6.11±0.84#	0.147	0.884
TNF-α(ng/L)	术前	6.78±0.74	6.82±0.76	0.210	0.834
	术后1周	24.37±3.59*	31.45±4.62*	6.762	0.000
	术后1个月	7.16±0.82#	7.22±0.84#	0.285	0.777
	术后18个月	6.95±0.78#	7.03±0.81#	0.396	0.693
IL-4(ng/L)	术前	38.26±4.91	37.92±4.88	0.273	0.786
	术后1周	27.34±3.58*	16.86±2.54*	13.214	0.000
	术后1个月	37.83±4.78#	36.79±4.81#	0.854	0.397
	术后18个月	38.11±4.84#	37.57±4.76#	0.443	0.660
TGF-β(ng/L)	术前	107.92±13.85	110.22±14.36	0.642	0.523
	术后1周	85.63±9.76*	62.34±7.08*	10.694	0.000
	术后1个月	105.48±12.69#	108.05±13.24#	0.780	0.438
	术后18个月	106.37±13.18#	109.14±13.37#	0.821	0.415

*:与术前比较,$P<0.05$;#:与术后1周比较,$P<0.05$

2.6 免疫功能指标比较

与术前相比,2组患者术后1周IgA、IgG、IgM及红细胞免疫指标RFER、RBC-C3bR降低,REIR、RBC-ICR升高,且观察组降低/升高幅度小于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。上述指标在术后1~18个月的随访中均逐渐恢复至术前水平,见表7。

表7 免疫功能指标比较($\bar{x}\pm s$)

指标	时间	观察组($n=32$)	对照组($n=30$)	t	P
IgA(g/L)	术前	3.18±0.52	3.22±0.55	0.294	0.769
	术后1周	2.75±0.43*	2.39±0.34*	3.641	0.001
	术后1个月	3.06±0.50#	3.02±0.48#	0.321	0.749
	术后18个月	3.11±0.54#	3.17±0.56#	0.429	0.669
IgG(g/L)	术前	14.13±1.52	13.95±1.49	0.470	0.640
	术后1周	11.26±1.14*	10.18±1.01*	3.938	0.000
	术后1个月	13.57±1.46#	13.29±1.38#	0.775	0.441
	术后18个月	13.82±1.54#	13.64±1.47#	0.470	0.640
IgM(g/L)	术前	2.05±0.46	2.08±0.49	0.249	0.804
	术后1周	1.73±0.38*	1.39±0.27*	4.037	0.000
	术后1个月	1.94±0.40#	1.92±0.41#	0.194	0.847
	术后18个月	1.98±0.42#	2.03±0.45#	0.453	0.652
RFER(%)	术前	68.53±6.94	67.92±6.89	0.347	0.730
	术后1周	54.72±5.61*	50.83±5.26*	2.812	0.007
	术后1个月	65.83±6.75#	65.69±6.67#	0.082	0.935
	术后18个月	67.46±6.82#	66.51±6.78#	0.550	0.585
RBC-C3bR(%)	术前	15.91±1.78	15.82±1.74	0.201	0.841
	术后1周	9.67±1.15*	9.03±0.98*	2.351	0.022
	术后1个月	15.12±1.66#	14.97±1.63#	0.359	0.721
	术后18个月	15.54±1.72#	15.28±1.69#	0.600	0.551
REIR(%)	术前	21.08±2.14	20.79±2.09	0.539	0.592
	术后1周	34.92±3.60*	37.11±3.82*	2.324	0.023
	术后1个月	21.72±2.08#	21.56±2.04#	0.306	0.761
	术后18个月	21.43±2.15#	20.92±2.11#	0.942	0.350
RBC-ICR(%)	术前	3.52±0.48	3.49±0.50	0.241	0.810
	术后1周	10.06±0.95*	11.28±1.27*	4.301	0.000
	术后1个月	3.76±0.54#	3.68±0.57#	0.568	0.572
	术后18个月	3.61±0.52#	3.57±0.53#	0.300	0.765

*:与术前比较,$P<0.05$;与术后1周比较,$P<0.05$

3 讨论

理想的骨移植材料应具备良好的生物相容性,可实现完全生物降解,局部能形成微酸性生物环境,兼具骨生成性、传导性和诱导性,利于成骨细胞和血管长入等特点[9]。近年来,国内外学者采用组织工程骨修复大动物骨缺损实验以及修复人类骨缺损试验均取得较好效果,为临床骨缺损修复这一难题提供了新的方法[10-12]。本研究结果表明,个体化组织工程骨和同种异体骨修复人四肢长骨缺损均获得较好的中长期疗效,术后1年患者骨愈合和肢体功能恢复良好,骨移植材料与周边正常骨组织骨密度基本一致,患者肢体疼

痛、活动障碍等临床症状显著缓解,且个体化组织工程骨植入后骨愈合时间明显缩短,说明其成骨能力更优异。分析原因与组织工程骨的组成密切相关,首先组织工程骨使用了发挥骨传导作用的支架材料,其次其含有促进骨诱导、新骨生成以及血管化的生长因子,最重要的是组织工程骨存在具有较高成骨分化潜能的种子细胞,即自体 BMSCs,可为组织工程骨提供大量的活性成分。该结果与以往国内外文献报道的 BMSCs 对骨缺损修复具有促进作用,以及含有 BMSCs 的组织工程骨可提高骨缺损的修复效果一致[13-14]。然而,有研究发现 60 岁以上的患者 BMSCs 的增殖分化能力和成骨活性较低,无法满足作为种子细胞的要求[15],因此本研究仅纳入了 60 岁以下由多种原因造成的四肢长骨缺损的患者。

虽然个体化组织工程骨和同种异体骨修复骨缺损效果较好,但其近中长期的安全性仍是最值得关注的问题。本研究结果表明,植入个体化组织工程骨和同种异体骨近中长期安全均有保障,但总体来看,个体化组织工程骨安全性更高。本研究对 2 组患者术后连续 1 周进行安全性评估,但患者体温和局部皮肤温度仅在术后 2 d 时明显升高,且对照组高于观察组,另外术后 2 d 时对照组患肢植骨区周径明显大于术前和观察组,分析原因与对照组有 4 例患者出现术后切口分泌物增多、局部皮肤温度高甚至肢体肿胀有关。手术创伤本身就是一种应激源,术后短期内患者体温升高属正常生理病理反应,随着伤口愈合即可恢复正常;同种异体骨可能由于存在一定的免疫排斥反应而导致体温更高,患肢发生肿胀而使植骨区周径变大。作为临床上常使用的监测肝功能的指标,血液中 ALT 和 AST 活性能敏感地反映肝组织是否发生损伤以及损伤程度[16]。UA 和 Cr 则常被用于反映肾受损情况和肾功能[17]。临床研究发现,不同年龄段的人群 ALP 水平差异较大[18]。本研究 2 组患者中儿童和成年人比例相当,因此未对不同年龄人群进行分组比较。本研究中,患者 ALT、AST 及 ALP 活性在组内不同时间点和组间比较差异均无统计学意义,2 组患者 UA 和 Cr 仅在术后 1 周显著升高,且升高后水平仍在正常参考范围内。说明个体化组织工程骨和同种异体骨均无肝肾毒性,与早期文献报道相符[19]。

ESR 和血常规是临床常规检查项目,WBC、NEU% 以及 NLR 是血常规的检查指标[20]。临床上,CRP 常被用作感染、组织损伤以及炎症反应的敏感性标志物[21];IL-6 和 TNF-α 为常见的促炎因子,通过调节内源性细胞进而介导机体组织的炎症反应,常被用于反映组织和器官的损伤程度[22];IL-4 和 TGF-β 则是常见的抗炎因子,参与抑制淋巴细胞增殖反应,对免疫抑制发挥控制作用,从而拮抗炎症反应[23]。本研究结果表明个体化组织工程骨和同种异体骨植入后患者均在术后 1 周出现炎症反应,且观察组患者炎症反应更轻微,推测是由手术创伤引发,对照组患者炎症反应较重可能与其具有一定程度的免疫排斥反应相关,术后 1 个月复查及更长期随访结果显示炎症反应均消失,证实个体化组织工程骨和同种异体骨植入中长期安全性可靠,与 Kawecki 等[24]的结论一致。IgA、IgG、IgM 可作为评估机体免疫功能以及移植骨是否存在排斥反应的检验指标。近年来有研究显示,红细胞免疫与感染、机体炎症反应以及预后关系密切,能有效反映机体免疫状况[25]。本研究中,2 组患者仅在术后 1 周免疫功能降低,且观察组患者免疫状态优于对照组,这与个体化组织工程骨无免疫源性,不会引发免疫排斥反应密切相关。术后 1 ~ 18 个月随访中上述指标均逐渐恢复至术前水平,同样证实个体化组织工程骨和同种异体骨植入安全性高的特点。

综上,个体化组织工程骨修复人长骨缺损比同种异体骨成骨能力更优异,骨愈合时间明显较短,其近中长期的生物安全性更可靠,值得临床上推广使用。

[参考文献]

[1] Sierra NE, Diaz-Gallardo P, Knörr J, et al. Bone allograft segment covered with a vascularized fibular periosteal flap: a new technique for pediatric mandibular reconstruction[J]. Craniomaxillofac Trauma Reconstr, 2018, 11(1): 65 - 70. doi: 10.1055/s - 0036 - 1593992.

[2] Liang F, Leland H, Jedrzejewski B, et al. Alternatives to autologous bone graft in alveolar cleft reconstruction: the state of alveolar tissue engineering[J]. J Craniofac Surg, 2018, 29(3): 584 - 593. doi: 10.1097/SCS.0000000000004300.

[3] 崔宇韬,李祖浩,万 谦,等. 3D 打印金属假体在关节外科的临床应用[J]. 中国修复重建外科杂志,2019,33(6):774 - 777.

[4] Dvoracek LA, Lee JY, Ayyash A, et al. Demineralized bone matrix and resorbable mesh bilaminate cranioplasty is ineffective for secondary reconstruction of large pediatric cranial defects[J]. Plast Reconstr Surg, 2020, 145(1): 137e - 141e. doi: 10.1097/PRS.0000000000006386.

[5] Sanghani-Kerai A, Mccreary D, Lancashire H, et al. Stem cell interventions for bone healing: fractures and osteoporosis[J]. Curr Stem Cell Res Ther, 2018, 13(5): 369 - 377. doi: 10.2174/1574888X13666180410160511.

[6] Gjorup CA, Hendel HW, Klausen TW, et al. Reference values for assessment of unilateral limb lymphedema with dual-energy X-ray absorptiometry[J]. Lymphat Res Biol, 2018, 16(1): 75 - 84. doi: 10.1089/lrb.2016.0064.

[7] Lai YF, Lin PC, Chen H, et al. Current status and changes in pain and activities of daily living in elderly patients with osteoarthritis before and after unilateral total knee replacement surgery[J]. J Clin Med, 2019, 8(2):221. doi:10.3390/jcm8020221.

[8] 郭 峰. 红细胞免疫功能的10种检测方法[J]. 免疫学杂志, 1996(6):60.

[9] Morris MT, Tarpada SP, Cho W. Bone graft materials for posterolateral fusion made simple: a systematic review[J]. Eur Spine J, 2018, 27(8):1856-1867. doi:10.1007/s00586-018-5511-6.

[10] Assanah F, Khan Y. Cell responses to physical forces, and how they inform the design of tissue-engineered constructs for bone repair: a review[J]. J Mater Sci, 2018, 53(2):5618-5640. doi:10.1007/s10853-017-1948-y.

[11] Shahnaseri S, Sheikhi M, Hashemibeni B, et al. Comparison of autogenous bone graft and tissue-engineered bone graft in alveolar cleft defects in canine animal models using digital radiography[J]. Indian J Dent Res, 2020, 31(1):118-123. doi:10.4103/ijdr.IJDR_156_18.

[12] Yin S, Zhang W, Zhang Z, et al. Recent advances in scaffold design and material for vascularized tissue-engineered bone regeneration[J]. Adv Healthc Mater, 2019, 8(10):e1801433. doi:10.1002/adhm.201801433.

[13] Lee KI, Lee JS, Kang KT, et al. In vitro and in vivo performance of tissue-engineered tendons for anterior cruciate ligament reconstruction[J]. Am J Sports Med, 2018, 46(7):1641-1649. doi:10.1177/0363546518759729.

[14] O'Donnell JC, Katiyar KS, Panzer KV, et al. A tissue-engineered rostral migratory stream for directed neuronal replacement[J]. Neural Regen Res, 2018, 13(8):1327-1331. doi:10.4103/1673-5374.235215.

[15] Li X, Zheng Y, Hou L, et al. Exosomes derived from maxillary BMSCs enhanced the osteogenesis in iliac BMSCs[J]. Oral Dis, 2020, 26(1):131-144. doi:10.1111/odi.13202.

[16] 梁燕媚,黄伟健,高飞云. 脂肪肝患者血脂、血糖和肝功酶学指标变化的检测分析[J]. 中国当代医药,2019,26(18):155-158. doi:10.3969/j.issn.1674-4721.2019.18.048.

[17] Srettabunjong S, Thongphap W, Chittamma A. Urea, uric acid, and creatinine in postmortem blood, vitreous humor, and synovial fluid: a comparative and correlation study[J]. J Forensic Sci, 2020, 65(1):128-133. doi:10.1111/1556-4029.14138.

[18] Zhao L, Li MY, Sun H. Effects of dietary calcium to available phosphorus ratios on bone metabolism and osteoclast activity of the OPG/RANK/RANKL signalling pathway in piglets[J]. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl), 2019, 103(4):1224-1232. doi:10.1111/jpn.13115.

[19] Dun XP, Parkinson DB. Classic axon guidance molecules control correct nerve bridge tissue formation and precise axon regeneration[J]. Neural Regen Res, 2020, 15(1):6-9. doi:10.4103/1673-5374.264441.

[20] 李 华,谢卫宁. 不同时期植骨在开放性骨折术后继发Ⅲ、Ⅳ型骨髓炎患者中的效果观察[J]. 广西医科大学学报,2019,36(10):1655-1659. doi:10.16190/j.cnki.45-1211/r.2019.10.025.

[21] Çoner A, Aydınalp A, Müderrisoğlu H. Evaluation of hs-CRP and sLOX-1 levels in moderate-to-high risk acute coronary syndromes[J]. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, 2020, 20(1):96-103. doi:10.2174/1871530319666190408145905.

[22] Huang J, Ning N, Zhang W. Effects of paraquat on IL-6 and TNF-α in macrophages[J]. Exp Ther Med, 2019, 17(3):1783-1789. doi:10.3892/etm.2018.7099.

[23] Zhao JJ, Song YP, Liu LN, et al. Effect of arsenic trioxide on the Tregs ratio and the levels of IFN-γ, IL-4, IL-17 and TGF-β1 in the peripheral blood of severe aplastic anemia patients[J]. Medicine(Baltimore), 2020, 99(26):e20630. doi:10.1097/MD.0000000000020630.

[24] Kawecki F, Clafshenkel WP, Fortin M, et al. Biomimetic tissue-engineered bone substitutes for maxillofacial and craniofacial repair: the potential of cell sheet technologies[J]. Adv Healthc Mater, 2018, 7(6):e1700919. doi:10.1002/adhm.201700919.

[25] Peng YC, Qi YW, Zhang C, et al. Plasmodium yoelii erythrocyte-binding-like protein modulates host cell membrane structure, immunity, and disease severity[J]. mBio, 2020, 11(1). doi:10.1128/mBio.02995-19.

(编辑:左艳芳)