维普资讯 http://www.cqvip.com

骨基质明胶的临床应用*

第一医院骨科

吴祖尧 谭富生 严为棣

提 要 本文报告15例同种骨基质明胶(BMG)的临床应用结果，其中7例为良性骨肿瘤，都为BMG的诱导成骨所治愈；1例脊柱融合术也由BMG的骨诱导所融合；7例长骨干骨折不连接，仅3例发生骨性愈合，4例失败，其中2例再植BMG，再次失败。全组病人均无早期感染或免疫排斥反应。作者讨论了疗效不同的原因在于使用方法而不在于BMG本身

关键词 骨基质明胶；骨形态发生蛋白

诱导成骨学说和骨形态发生蛋白(Bone Morphogenetic Protein, BMP)的提纯是研究促进骨折愈合与骨缺损修复的重大突破。目前，临床应用的报道很少，大多限于早期的脱钙骨基质(Demineralized Bone Matrix, DBM)，只有个别报道涉及骨基质明胶(Bone Matrix gelatin, BMG)，而对BMP只有个案报道，但是目前世界上的研究趋向在于研究BMP的载物(delivery system)，一旦研究成功，则治疗骨折和骨缺损将有一个重大改革。本文所述是作者1986年起，在实验研究的基础上，应用BMG于临床的经验总结，以观察其疗效和可能发生的问题。

资料和方法

病例选择 凡需用植骨治疗的病人均可试用BMG代替。1986年2月至1988年1月共为7例良性骨肿瘤和类肿瘤(骨巨细胞瘤1例、非骨化性纤维瘤1例、动脉瘤样骨囊肿1例、骨囊肿2例、骨纤维结构不良2例)，7例长骨干骨折不连(股骨3例、肱骨3例、尺骨1例)和1例脊柱融合术作了BMG植入术。男10，女5，年龄16～56岁，平均31.9岁。两例骨折不连接病人由于一次BMG植入失败，做了第二次植入，即此全组共施行17次BMG植入。随访时间最长34月，最短12月，平均19.8月。

BMG 制备法 所用BMG是利用创伤性截肢而得的新鲜人骨按Urist法由本研究室自制。从骨干上剥离软组织，切除两端松质骨，留下骨干和少许干骺部。击碎成大块后，除去髓腔内脂肪，用大量去离子水洗净，用氯仿—甲醇(1:1)脱脂12h，4℃。用0.6N盐酸脱钙24h，再用氯仿—甲醇脱脂一次，然后用2.0M $CaCl_2$处理24h，0.5M EDTA(pH7.4)处理4h，最后用3.0M $LiCl_2$处理24h。用大量蒸馏水充分洗净，冷冻干燥后用双层塑料袋包装，每包5g，在环氧乙烷气体灭菌后待用。

手术方法 对良性骨肿瘤和类肿瘤，先将病损彻底刮除，直至健康骨壁，用干纱布填塞止血。然后将BMG条剪成4×4×4mm³的小块，与体积稍大的医用明胶海绵小块混合，置入骨腔，填满塞紧，缝合创口。所用BMG视骨腔的体积而定，一般为20～35g。

对骨折不连接，由于部位和局部病理差异较大，常需在术前对手术途径、切除瘢痕的范围、内固定方法和植入BMG的部位作周密设计，有的病人，尚

注：*国家自然科学基金(3861121)和四川省卫生厅资助项目

维普资讯 http://www.cqvip.com

需在术前切除瘢痕并作整形手术。在处理骨折不连接时，先去除原有的内固定物，咬去硬化骨端，打通骨髓腔，切除周围软组织瘢痕，再作植骨内固定。在骨折端之间如有间隙，将入BMG块，在骨折周围以纵方向置入2×3×40mm³的皮质骨BMG条，一般约 ～4层，用尼龙丝线捆扎固定。BMG用量一般为10～20g。术后用石膏作外固定，直至骨折愈合。

对3例脊柱融合术，先将椎板削薄，用Luque棒固定于棘突根部，再将皮质骨BMG条铺置于椎板上。术后用石膏背心作外固定。

结　果

1．感染与窦道形成　全组病人均未发生早期感染、窦道形成或术后低热。1例骨囊肿在植入BMG 18月后，切口红肿破溃，流出黄色液体。3日后再来我院，检视创口，为一小骨腔，肉芽组织新鲜，镶有半骨化的BMG残余少许。x线摄片显示腔壁已有一厚层新骨形成，惟其中央约有1/6体积未被新骨所填。骚刮创口后，经数日观察，肉芽组织依然新鲜，无脓液，在创面上又撒上BMG粉末，创口旋即愈合。

2．良性骨肿瘤和类肿瘤　7例病人经彻底刮除病理组织和植入BMG后，其最终结果是全部骨缺损为新骨所填，治愈率达100%，1例骨巨细胞瘤，其恶性程度为Ⅰ～Ⅱ级，经2年随访未见复发。但从x线摄片观察，全组病人出现新骨形成的最早时间平均为4月（3～6月），而完全骨化的时间平均在术后14.2月（9～20月）。

3．骨折不连接　7例不连接病人在本次手术前均已做过1～2次切开复位与内固定术或植骨术。3例病人在植入BMG平均5月（4～6月）后出现骨痂形成，12.2月（分别为5.5、8、23月）后才完成骨痂形成。从x线摄片所见，主要为中间骨痂，很少外骨痂。由于保护病人不受多次照射x线的损害，摄片时间并无严格规定，因此骨痂形成的开始和完成时间，似有突然出现的现象，但总的印象是较新鲜骨折或自身植骨的时间慢。另4例病人在植入BMG后，骨折仍不连接，其中2例再次植入BMG，仍以失败告终。此6次手术均有失败原因可查：3次为病人不能坚持长期完整的外固定所致，2次为内固定不牢固引起，1次为选择病例不当而发生。

4．脊椎融合术　由于在此手术中，不易从x线摄片上观察BMG的诱导成骨现象，故仅为1例脊椎结核病人使用了BMG（加用Luque棒固定）。24.5月后因发生不全瘫痪，在作椎板减压术中发现椎板已融合，有大量新骨形成。

总之，全组15例病人，11例手术成功；17次手术中，11次成功。以病种而言，对囊性骨缺损和脊椎融合术，全部成功；对骨折不连接，7例病人中3例成功，9次手术中3次成功。两个病种的疗效有明显差异。

5．局部组织的病理学观察　本组15例病人有3次手术和1例病人有观察局部病理的机会，计：2次BMG再植术，1次椎板减压术。1例骨囊肿晚期"感染"。前2次手术是为骨折不连接植入BMG后失败的病人而再作的BMG植入术，发现两个病人的局部病理相同，即在植入BMG部位，其外层已形成一薄层骨壳，但从骨壳中可取出原先植入的BMG条，病理切片显示为明胶片，无细胞长入，也无骨化。从椎板减压术中也取出一条半骨化的明胶条。从骨囊肿晚期破溃的创口中也取出BMG的丝状残余。

讨　论

BMP可诱导血管周围的间充质类细胞增殖和分化为骨祖细胞、软骨母细胞、骨母细胞、软骨细胞和骨细胞等，从而形成软骨、非板层骨、板层骨和骨髓。这一诱导成骨的过程是不可逆的。脱钙骨是在提纯BMP过程中的初级产物，仅经过脱钙和脱脂两道化学处理。虽含有BMP，但仍保存15%细胞，因而含有胶原和非胶原高分子蛋白等抗

维普资讯 http://www.cqvip.com

原性物质。BMG是继续纯化BMP过程中的中间产物。它已从DBM中提去95%以上的非胶原蛋白，包括蛋白多糖、磷蛋白、涎蛋白等，并将胶原转化为抗原性很低的明胶。余下的5%非胶原蛋白为BMP和很难提去的其它低分子蛋白。因此，从纯度而言，BMG明显高于DBM，其抗原性则低于DBM。但至目前为止，极少文献涉及BMG的临床应用，故作者将BMG先应用于临床，在取得经验后再试用BMP。

本组病例17次手术的切口均一期愈合，并无早期感染或窦道形成，术后又无反常的长期低热。有2例骨折不连接病人因第一次植入BMG失败再作第二次植入BMG，前后两次手术后均未见任何全身和局部不良反应。1例骨囊肿病人在植入BMG16月后创口破溃，无脓液，在创面上撒上BMG粉后，创面即愈合，也无不良反应。以上临床观察可以说明BMG并无早期和晚期免疫反应，足以说明抗原性很低。至于后者病例的晚期创口溃破可能是由于BMG残余在骨的残腔内所引起的异物反应所致。

对7例良性骨肿瘤和类肿瘤，全部由BMG治愈，疗效令人鼓舞。但对7例骨折不连接病人，9次手术仅3次手术成功，疗效很不满意。两个病种的疗效相差如此悬殊，实有重点探讨的必要。

BMG的诱导成骨活性可因内源性中性蛋白酶、粉碎的程度，以及温度等因素而失效。但本组病人所用BMG是同一批制备的产品，条件一致，生物活性检验阳性，不应有失效问题。至于粉碎问题，只有粉碎过细者才能影响疗效，而作者所用为小块和条片，并不存在粉碎过细问题。肿瘤组使用的是BMG小块和医用明胶海绵小块相混。植入骨腔后，血管可由明胶海绵的间隙中长入，从而可使BMG小块容易获得血供，诱导成骨。但在骨折组，所用的是BMG条片，密密排列，层层相叠。当其最外层与周围血供丰富的组织接触后，迅即被诱导而成一层骨壳。但因BMG条片是由皮质骨制备而成，并非多孔结构，又因排列和相叠形式，故此骨壳成为阻碍血管继续向深处长入的屏障，使骨壳下的BMG条片不能获得充分血供而骨化失败。脊椎结核病人在植入BMG条2年后所发现的一条半骨化BMG，其机理相同，但因椎板血供丰富，已被茜毛，BMG也可很快从椎板获得血供，故仅发现一条BMG，且已半骨化。至于从骨囊肿病例中取出的丝状BMG残余是相嵌在新形成的骨腔游离面上。虽植入者为BMG小块，若能将骨腔填满塞紧，不致形成小的残腔，也不致在游离面上遗留残丝。由此可见，骨折病例的失败原因之一，并不在BMG本质，而在于使用方法。此一现象并非偶然。在Iwata报道同种、自溶、提去抗原的BMG(AAA-BMG)临床应用中，也曾提及2例骨肿瘤病人分别在术后3½和2年从植入部位取出BMG残余，但未加说明，可见新的材料必有新的使用方法，有待研究和观察，然后阐明其机理，予以解决，以扩大应用。以BMG而言，植入形式和受植床的血供是植入成功的重要因素之一。

按Urist实验，BMP在5～10mg以内者，其诱导成骨的多少与植入BMP的剂量成正比。当植入BMP少于1mg时，仅能用^{45}Ca测出其新骨的矿物质，而难于从显微x线片上观察到新骨形成，当剂量为5～10mg时，则有明显可见的新骨形成。本组病例所使用的剂量，对骨折不连接为BMG10～20g，而对骨肿瘤，按其骨腔的大小，为20～35g，约为骨折病例的一倍，可能为两组病例疗效差异的原因之一。按我们在提纯过程中的产量计算，前者含BMP(P_3)0.052～0.078mg，后者为0.105～0.183mg，远低于1mg。若以我们的粗提品，P_1计算，则前者含20～40mg，后者为40～70mg，则远大于Urist的5～10mg。但Urist并未说明所用BMP是初步还是最终提纯的BMP。按他的产量计算，仅能使用粗提品。因此，我们认

维普资讯 http://www.cqvip.com

为本组病例所使用的BMG剂量是足以引起诱导成骨的，并且成骨多少与所用剂量有关，但在x线摄片上出现新骨形成和最终骨结合的现象相当缓慢，可能与BMG为BMP粗提品，其纯度和剂量尚嫌不足有关。

骨折不连接的治疗与良性骨囊腔性病变不同，除须彻底切除骨折端的硬化骨和周围软组织瘢痕外，尚须坚持长期，坚实、不间断的内、外固定，直至骨折连接。从固定这一因素分析本组骨折不连接病人，皆有失败原因可查，其中以术后未能坚持或维持牢固固定者为主，其责任有的属治疗者，有的属病人。加之使用条状BMG密密层层排列等因素，以致9次手术，6次失败。相反，骨肿瘤病人并无内、外固定之需，例例成功；脊椎融合术病人因有Luque棒的牢固固定，也能成功，由此可以说明使用BMG不能离弃治疗骨折不连接的任何细则。虽然自身植骨也有30%的失败率，但也不能以此原谅BMG的失败。总之，通过初步临床应用，作者认为BMG的诱导成骨作用是肯定的，更有信心作为一项新材料应用于临床，前途广阔，但其使用方法和剂量等问题有待继续研究。

参考文献

[1] Iwata H, et al. Clin Orthop 1981; 154: 150

[2] Kakiuchi T, et al. Internat Orthop 1985; 9: 81

[3] Ayfestad G, et al. Clin Orthop 1979; 141: 281

[4] Urist MR, et al. Proc Natl Acad Sci USA 1975; 70: 3511

[5] Urist Mr, et al. Science 1982; 220: 680

[6] Wu ZY, and Hu XB. Clin Orthop 1988; 230: 229

BONE MATRIX GELATIN ALLO-IMPLANTS IN CLINICAL USE

Wu Zuyao, Tan Fusheng and Yan Weidi

(Orthopedic Research Laboratory, The First Hospital)

Seven cases of benign bone tumors, a case of spinal fusion and seven cases of un-united fractures of shafts of long bones, were treated with allogenic bone matrix gelatin (BMG) implants and were followed up for more than one year. All tumor cases were cured by osteo-induction from BMG, while only three of the seven fractures united. Two of the failures were reimplanted with BMG and failed again. Not a single case developed post-operative infection nor immunologic reaction. The BMG used was obtained from the same preparation, so that deterioration of its biological activity by endogenous protease was not likely. BMG small BMG cubes were used in tumor cases and slabs in fractures. The small cubes were mixed with pieces of gel-foam and packed into the post-operative bony cavities while the slabs were arranged layer by layer at the fracture sites. This might be one of the reasons why the tumor cases had higher rate of cure. Another reason was that non-unions needed prolonged, continuous and firm internal and external fixation post-operatively while the tumor cases needed not The amount of BMP calculated from BMG was not enough for early and solid osteogenesis. In the authors' opinion, with the use of new biomaterial, it should be followed by new method of application, but the principles of surgery should not be changed

KEY WORDS Bone matrix getatin, Bone Morphogenetic protein