

## · 临床研究 ·

自体细胞生长因子注射联合体外冲击波  
治疗下肢骨折不愈合的临床研究

金鑫, 谭勇海, 张中禹, 鞠昌军, 严伟, 姜红江

(山东省文登整骨医院, 山东 威海 264400)

**摘要** 目的: 观察自体细胞生长因子注射联合体外冲击波治疗下肢骨折不愈合的临床疗效。方法: 将 48 例下肢骨折不愈合患者随机分为联合治疗组和冲击波治疗组, 每组 24 例。联合治疗组先向骨折两断端注射以自体外周血制备的细胞生长因子, 然后进行体外冲击波治疗; 冲击波治疗组仅进行冲击波治疗。自体细胞生长因子注射和体外冲击波治疗均每隔 4 d 治疗 1 次, 共治疗 3 次。治疗结束后定期拍摄 X 线片, 观察骨折愈合情况。结果: 制备的细胞生长因子中主要包括血管内皮生长因子、转化生长因子- $\beta$ , 含量分别为  $(583.87 \pm 23.51) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$  和  $(195.73 \pm 26.08) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。48 例患者均获得随访, 随访时间 3~10 个月, 中位数 4.5 个月。治疗后 2 个月时, 2 组均有骨折开始愈合的病例, 至治疗后 10 个月时, 联合治疗组 23 例骨折愈合、冲击波治疗组 18 例骨折愈合, 联合治疗组的骨折愈合率高于冲击波治疗组 ( $\chi^2 = 4.181, P = 0.041$ )。结论: 自体细胞生长因子注射联合体外冲击波能有效治疗下肢骨折不愈合, 其效果优于单纯体外冲击波治疗。

**关键词** 骨折, 不愈合; 体外冲击波治疗; 血管内皮生长因子类; 转化生长因子  $\beta$

**A clinical study of injection of autologous cell growth factors combined with extracorporeal shock wave therapy for treatment of nonunion of lower limb fractures**

JIN Xin, TAN Yonghai, ZHANG Zhongyu, JU Changjun, YAN Wei, JIANG Hongjiang

The Wendeng Osteopath Hospital, Wendeng 264400, Shandong, China

**ABSTRACT** **Objective:** To observe the clinical curative effects of injection of autologous cell growth factors combined with extracorporeal shock wave (ESW) therapy for treatment of nonunion of lower limb fractures. **Methods:** Forty-eight patients with nonunion of lower limb fractures were randomly divided into combination therapy group and ESW therapy group, 24 cases in each group. The cell growth factors prepared by using autologous peripheral blood were injected into both broken ends of fractured bone and then ESW therapy was performed on patients in combination therapy group, while the patients in ESW therapy group were merely treated with ESW therapy. Both injection of autologous cell growth factors and ESW therapy were performed on patients for consecutive 3 times with a 4-day rest-insertion between times. The X-ray films of lower limbs were periodically taken after the end of the treatment, and the fracture healing was observed. **Results:** The prepared cell growth factors consisted mainly of vascular endothelial growth factor (VEGF) and transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), which contents were  $583.87 \pm 23.51$  and  $195.73 \pm 26.08 \text{ pg/mL}$  respectively. All patients were followed up for 3~10 months with a median of 4.5 months. The fractures of some patients began to heal in both of the 2 groups at 2 months after the treatment. The fractures healed in 23 patients of combination therapy group and 18 patients of ESW therapy group at 10 months after the treatment, and the fracture healing rate was higher in combination therapy group compared to ESW therapy group ( $\chi^2 = 4.181, P = 0.041$ ). **Conclusion:** The combination therapy of injection of autologous cell growth factors and ESW therapy can effectively treat nonunion of lower limb fractures, and its curative effect is better than that of monotherapy of ESW.

**Keywords** fractures, ununited; extracorporeal shockwave therapy; vascular endothelial growth factors; transforming growth factor beta

骨折不愈合又称骨不连, 是骨折端在某些条件影响下, 骨折愈合停止, 骨折端形成假关节, 主要表现为肢体活动时骨折部有明显的异常活动而疼痛不明显的一种疾病。细胞生长因子和体外冲击波治疗均已被证实能有效治疗骨折不愈合<sup>[1-5]</sup>, 但对于二者联合

应用能否进一步提高疗效, 目前尚未见到相关的研究。为此, 我们对自体细胞生长因子注射联合体外冲击波治疗下肢骨折不愈合的疗效进行了观察, 并与单纯体外冲击波治疗进行了比较, 现总结报告如下。

## 1 临床资料

**1.1 一般资料** 纳入研究的患者共 48 例, 均为 2016 年 3 月至 2017 年 9 月在山东省文登整骨医院住院治

基金项目: 山东省威海市科技发展计划项目 (2017GNS13)

通讯作者: 姜红江 E-mail: boneman@163.com

疗的患者。男 36 例,女 12 例。年龄 20 ~ 45 岁,中位数 34.5 岁。股骨骨折不愈合 7 例,胫骨骨折不愈合 32 例,腓骨骨折不愈合 9 例。病程 11 ~ 15 个月,中位数 12.5 个月。试验方案经医院医学伦理委员会审查通过。

**1.2 诊断标准** 采用美国食品药品监督管理局颁布的骨折不愈合诊断标准<sup>[6]</sup>。

**1.3 纳入标准** ①符合上述诊断标准;②采用切开复位内固定术治疗的下肢骨折;③骨折断端间隙 ≤ 10 mm,局部软组织条件好;④同意参与本研究,签署知情同意书。

**1.4 排除标准** ①合并局部感染、皮肤破溃、肿瘤、骨髓炎、病理性骨折及其他骨病者;②合并严重内科疾病者;③孕妇、哺乳期妇女。

## 2 方法

**2.1 分组方法** 采用随机数字表将符合要求的 48 例患者随机分为联合治疗组和冲击波治疗组,每组 24 例。2 组患者的基线资料比较,差异均无统计学意义,有可比性(表 1)。

**2.2 自体细胞生长因子制备方法** 在生物安全柜中,向 100 mL 注射器中加入低分子量肝素钠,制成肝素化的注射器。常规消毒后,抽取患者 100 mL 外周静脉血,在生物安全柜中分装进 50 mL 的无菌离心管,以  $1000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 20 min(离心半径 9 cm),可见全血分成 3 层,吸取不带红细胞的中上层血清平均分装进 10 mL 离心管,在  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱过夜后,置于  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱中备用。

**2.3 治疗方法** 联合治疗组采用自体细胞生长因子注射联合体外冲击波治疗。从冰箱中取出自体细胞生长因子,在  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  水浴锅中融化,时间不超过 5 min。在  $3000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 6 min(离心半径 9 cm)后分为 2 层(上层为自体细胞生长因子,下层为细胞碎片)。取上清液,向其中加入  $10\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的强力霉素,用 5 mL 注射器抽取备用。以半自动酶标仪采用 ELISA 法检测样本中各种细胞生长因子的含量,操作过程均

严格按照试剂说明书进行。自体细胞生长因子注射在手术室完成,患者仰卧于手术台上,常规消毒,铺巾。先用一次性麻醉针找到下肢骨骨缺损大体部位,然后在 C 形臂 X 线机透视下找到确切的骨缺损部位。以 5 mL 注射器向骨折两断端共 4 ~ 5 个不同位置缓慢注入自体细胞生长因子。治疗后保持穿刺点干燥,每次治疗后常规使用抗生素 1 ~ 2 d。

自体细胞生长因子注射完成后返回病房进行体外冲击波治疗。治疗前须透视确定骨缺损部位。采用 MP-100 ESW 发散式冲击波型治疗仪(STORZ 公司)对骨折两端边缘进行冲击波治疗,频率为每分钟 60 ~ 70 次,能量  $0.54\text{ mJ} \cdot \text{mm}^{-2}$ ,聚焦范围  $1.0\text{ cm}^2$ ,冲击 3000 次,每次治疗 10 min。

冲击波治疗组仅采用体外冲击波治疗。自体细胞生长因子注射和体外冲击波治疗均每隔 4 d 治疗 1 次,共治疗 3 次。

**2.4 疗效评价方法** 治疗前及治疗后,定期(术后前 3 个月每月 1 次,以后每 2 个月 1 次)拍摄 X 线片直至骨折愈合。

**2.5 数据统计方法** 采用 SPSS19.0 软件进行数据统计分析。2 组患者性别、骨折愈合率的组间比较均采用  $\chi^2$  检验,年龄、病程的组间比较均采用  $t$  检验,病变部位的组间比较采用 Fisher 确切概率法。检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

## 3 结果

制备的细胞生长因子中主要包括血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ),含量分别为  $(583.87 \pm 23.51)\text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$  和  $(195.73 \pm 26.08)\text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。48 例患者均获得随访,随访时间 3 ~ 10 个月,中位数 4.5 个月。治疗后 2 个月时,2 组均有骨折开始愈合的病例,至治疗后 10 个月时,联合治疗组 23 例骨折愈合、冲击波治疗组 18 例骨折愈合,联合治疗组的骨折愈合率高于冲击波治疗组( $\chi^2 = 4.181, P = 0.041$ )。典型病例图片见图 1。

表 1 2 组下肢骨折不愈合患者基线资料比较

组别	样本量 (例)	性别(例)		年龄 ( $\bar{x} \pm s$ , 岁)	病程 ( $\bar{x} \pm s$ , 月)	病变部位(例)		
		男	女			股骨	胫骨	腓骨
联合治疗组	24	17	7	$35.25 \pm 2.79$	$10.75 \pm 1.86$	3	15	6
冲击波治疗组	24	19	5	$34.46 \pm 3.89$	$10.83 \pm 1.75$	4	17	3
检验统计量		$\chi^2 = 0.444$		$t = 1.854$	$t = 0.587$			
P 值		0.505		0.682	0.914	0.458		



图1 胫骨骨折不愈合自体细胞生长因子注射联合体外冲击波治疗前后 X 线片

#### 4 讨论

随着交通事故及高能量损伤的增加,骨折不愈合的发生率不断提高,已成为骨科的常见病<sup>[7]</sup>。早期手术因素、固定因素、血供因素、感染因素、全身因素等均与骨折不愈合的发生有关<sup>[8-12]</sup>。

体外冲击波可以使不同密度组织之间产生能量差,从而产生扭拉力,进而起到治疗骨折不愈合的作用<sup>[13]</sup>。研究表明,体外冲击波在临床应用中存在“时间依赖性”“累积效应”“能量依赖性”,能量水平对骨折的愈合起重要因素<sup>[14-15]</sup>。体外冲击波治疗骨折不愈合的原理可能是:体外冲击波刺激骨折区,使骨折区出现创伤反应,延长了炎症期,从而激发血管反应,产生新生毛细血管,上调成骨相关细胞生长因子,促进细胞的增殖和分化,有助于组织再生<sup>[16-18]</sup>。

细胞生长因子是由血小板破裂后产生的,血小板破裂后产生的细胞生长因子包括 VEGF、TGF- $\beta$  等,它们的主要作用是促进成骨细胞增长和繁殖,抑制破骨细胞的破骨功能,从而促进骨组织愈合<sup>[1,19]</sup>。VEGF 能促使骨折部位形成微血管,增加血液供应;TGF- $\beta$  能激活成骨前体细胞趋化,促进有丝分裂,刺激胶原基质产生沉淀,同时抑制破骨细胞的形成。Brown<sup>[20]</sup> 的研究表明,不同浓度的富血小板血浆的生物学效应也存在较大的差异,当血小板浓度为  $6 \times 10^8$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$  时,其生物效应最佳,血小板含量过少则生物效应差,血小板含量过高则会抑制新骨形成。我们采用的富血小板血浆来源于患者自身血液,因而不存在免疫源性和排斥性,也降低了感染传染性疾病的风险,产生的细胞生长因子主要为 VEGF 和 TGF- $\beta$ ,是

全血含量的 6 倍左右。

本研究的结果表明,自体细胞生长因子注射联合体外冲击波能有效治疗下肢骨折不愈合,其效果优于单纯体外冲击波治疗。由于样本量较小、观察时间较短、观察指标较为单一,该疗法的疗效还有待于进一步的研究来证实。

## 5 参考文献

- [1] 陈剑,袁文,宋滇文. 富血小板血浆在骨愈合治疗中的作用[J]. 中国组织工程研究, 2011, 15(41): 7755 - 7758.
- [2] 谭勇海,姜红江,秦立武,等. 自体细胞生长因子治疗中青年股骨颈骨折延迟愈合 62 例[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2014, 22(4): 61 - 62.
- [3] 谭训香,金鑫,谭勇海,等. 自体骨髓联合细胞生长因子治疗胫腓骨骨不连 42 例的体会[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2016, 24(1): 44 - 45.
- [4] 贾朗,黄荣忠,王愉乐,等. 不同强度体外冲击波联合骨髓间充质干细胞移植对大鼠骨缺损的修复效果[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2016, 36(12): 1706 - 1712.
- [5] 李恩. 体外冲击波治疗骨不连临床研究[D]. 太原: 山西医科大学, 2016.
- [6] RODRIGUEZ - MERCHAN EC, FORRIOL F. Nonunion: general principles and experimental data[J]. Clin Orthop Relat Res, 2004, 20(419): 4 - 12.
- [7] 葛站勇,白俊清. 胫骨骨不连的常见原因及治疗进展[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2013, 16(3): 508 - 510.
- [8] 潘治军,杨涛,思玉楼,等. 280 例骨不连病例原因分析[J]. 中国骨伤, 2013, 26(4): 284 - 286.
- [9] 黄志明,熊涛,林川. 18 例肱骨干骨折术后骨不连原因分析[J]. 重庆医学, 2008, 37(21): 2472 - 2474.
- [10] MELNYK M, HENKE T, CLAES L, et al. Revascularisation during fracture healing with soft tissue injury[J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2008, 128(10): 1159 - 1165.
- [11] 彭国常,汪玉辉,李跃,等. 胫骨内固定术后非感染性骨不连的原因分析及治疗[J]. 临床医学工程, 2014, 21(1): 52 - 53.
- [12] 蒋亮东,陶澄,何爱咏,等. 75 例股骨骨折不愈合发生的原因分析[J]. 重庆医学, 2014, 43(8): 970 - 972.
- [13] 崔博,郑学清,舒畅,等. 体外冲击波诱导骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化[J]. 中国老年学杂志, 2012, 32(3): 554 - 556.
- [14] CHEN HS, CHEN LM, HUANG TW. Treatment of painful heel syndrome with shock waves[J]. Clin Orthop Relat Res, 2001, (387): 41 - 46.
- [15] MCCLURE SR, VAN SICKLE D, WHITE MR. Effects of extracorporeal shock wave therapy on bone[J]. Vet Surg, 2004, 33(1): 40 - 48.
- [16] FRAIRIA R, BERTA L. Biological effects of extracorporeal shock waves on fibroblasts. A review[J]. Muscles Ligaments Tendons J, 2011, 1(4): 138 - 147.
- [17] WANG CJ, HUANG KE, SUN YC, et al. VEGF modulates angiogenesis and osteogenesis in shockwave - promoted fracture healing in rabbits[J]. J Surg Res, 2011, 171(1): 114 - 119.
- [18] VULPIANI MC, VETRANO M, CONFORTI F, et al. Effects of extracorporeal shock wave therapy on fracture nonunions[J]. Am J Orthop (Belle Mead NJ), 2012, 41(9): 122 - 127.
- [19] 鲍小明. VEGF 在骨质疏松性骨折愈合中的作用[J]. 中国矫形外科杂志, 2012, 20(22): 2054 - 2056.
- [20] BROWN GA. AAOS clinical practice guideline: treatment of osteoarthritis of the knee: evidence-based guideline, 2nd edition[J]. J Am Acad Orthop Surg, 2013, 21(9): 577 - 579.

(收稿日期: 2018-05-07 本文编辑: 李晓乐)

(上接第 9 页)

- [10] STOFFEL K, ZDERIC I, GRAS F, et al. Biomechanical evaluation of the femoral neck system in unstable pauwels III femoral neck fractures: a comparison with the dynamic hip screw and cannulated screws[J]. J Orthop Trauma, 2017, 31(3): 131 - 137.
- [11] 郝江峰,王东,孙海钰. DHS 与加压空心钉治疗股骨颈骨折的生物力学研究[J]. 山西医科大学学报, 2013, 44(9): 698 - 700.
- [12] FREITAS A, TORRES GM, SOUZA AC, et al. Analysis on the mechanical resistance of fixation of femoral neck fractures in synthetic bone, using the dynamic hip system and an anti - rotation screw[J]. Rev Bras Ortop, 2014, 49(6): 586 - 592.
- [13] 夏志锋,梁明,李亚峰,等. 三种内固定方式修复股骨颈骨折的有限元分析[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(31): 4630 - 4636.
- [14] THEIN R, HERMAN A, KEDEM P, et al. Osteosynthesis of unstable intracapsular femoral neck fracture by dynamic locking plate or screw fixation: early results[J]. J Orthop Trauma, 2014, 28(2): 70 - 76.
- [15] ALSHAMEERI Z, ELBASHIR M, PARKER MJ. The outcome of intracapsular hip fracture fixation using the Targon Femoral Neck (TFN) locking plate system or cannulated cancellous screws: A comparative study involving 2004 patients[J]. Injury, 2017, 48(11): 2555 - 2562.

(收稿日期: 2018-05-01 本文编辑: 李晓乐)