

[文章编号] 1000-2200(2005)03-0230-03

·临床医学·

## 血管化骨-重组异种骨治疗骨缺损的血管内皮生长因子表达

王宵光, 官建中, 丁海

**[摘要]**目的: 探讨血管化骨-重组异种骨(RBX)联合移植修复骨缺损的疗效及受体血清血管内皮生长因子(VEGF)的表达状况, 作为移植诱导效应的评价参考指标。方法: 27例骨缺损随机分为血管化骨-RBX移植修复组(A组, 9例); 血管化骨移植修复组(B组, 10例); RBX移植修复组(C组, 8例)。临床评价以术后3、6、12个月随访的X线片来判断骨缺损是否修复成功、骨愈合时间长短、是否再吸收等。3组分别在术前及术后2周、4周、6周、8周采用发光免疫分析法测定受体血清VEGF的表达。结果: 术后3个月A组8例、B组6例、C组3例骨愈合, 6个月A组1例、B组3例、C组3例延迟骨愈合, 12个月B组1例、C组2例发生骨移植区部分再吸收, 3组临床疗效差异无显著性( $P > 0.05$ )。3组术后第2、4周血清VEGF值均较术前升高( $P < 0.01$ ), 且A、B组均高于C组( $P < 0.01$ )。术后第6、8周3组的血清VEGF值术前及术后及各组间比较差异均无显著性( $P > 0.05$ )。结论: 血管化骨-RBX组的骨折愈合率明显优于单纯血管化骨移植和RBX移植。血管化骨-RBX组和血管化骨组的血清VEGF的值均明显高于术前及单纯RBX移植组。移植早期受体血清VEGF表达明显增高, 其对移植诱导效应的评价具有临床参考价值。

**[关键词]** 骨移植; 血管化骨; 重组异种骨; 骨缺损; 血管内皮生长因子

[中国图书资料分类法分类号] R 687.34 [文献标识码] A

### Expression of vascular endothelial growth factor in vascularized bone transplantation-reconstituted bone xeno graft transfer for repair of bone deflection

WANG Xiao-guang, GUAN Jian-zhong, DING Hai

(Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233004, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the efficiency of vascularized bone graft combined with reconstituted bone xeno graft (RBX) in repairing the bone deflection and the expression of the vascular endothelial growth factor (VEGF) as an evaluation index of bone graft success. **Methods** Twenty-seven cases of bone deflection were randomly divided into vascularized bone graft-RBX group, vascularized bone graft group and RBX group. The clinical results were evaluated by the radiograph 3 months, 6 months and 12 months after operation according to whether the bone deflection was repaired, how long it took the bone to heal and whether the bone graft died away or not. The expression of VEGF in serum was assayed with immuno analysis method in the 3 groups 2 weeks, 4 weeks, 6 weeks and 8 weeks before and after the operation. **Results** The bone deflections were repaired in 8 cases, 6 cases and 3 cases in the vascularized bone graft-RBX group, vascularized bone graft group and RBX group, respectively, 3 months after the operation. One case, 3 cases and 3 cases of bone deflections in the vascularized bone graft-RBX group, vascularized bone graft group and RBX group achieved delayed recovery respectively 6 months after the operation. One case in the vascularized bone graft group and 2 cases in the RBX group developed part absorption in the bone transplantation area 12 months after the operation. The difference was not significant ( $P > 0.05$ ). Serum VEGF value was higher 2 weeks and 4 weeks after the operation than before the operation in all the 3 groups, which was more obvious with the vascularized bone graft-RBX group and vascularized bone graft group ( $P < 0.01$ ). The serum VEGF value 6 weeks and 8 weeks after the operation had no significant difference between the groups ( $P > 0.05$ ). **Conclusions** Vascularized bone graft-RBX is more effective compared to the other 2 methods in repairing bone deflections. After the operation, serum VEGF value in the vascularized bone graft-RBX group and the vascularized bone graft group increased, compared with that of the RBX group. The expression of serum VEGF increased obviously in the earlier period of bone transplantation. It is of value for clinical evaluation of the efficiency of bone deflection repair with bone graft.

**[Key words]** bone transplantation; vascularized bone; reconstituted bone xenograft; bone deflection; vascular endothelial growth factor

重组异种骨(resconstituted xenograft, RBX)由bBMP与去抗原性的同源松质骨复合组成, 是一种新型植骨材料之一, 在临床上用于移植修复骨折、骨

不连及骨缺损等都已取得良好效果。本文采用血管化骨与RBX联合移植修复骨缺损的方法, 试图在减少过多切取自体骨量损伤的前提下, 既可以最大限度发挥自体骨移植的效能, 又有利于使骨形态生成蛋白(bone morphogenic protein, BMP)复合异质骨充分填充骨缺损的剩余空腔。同时本文侧重观察血管化骨-RBX复合物中BMP在诱导骨形成效应中

[收稿日期] 2004-09-13

[基金项目] 蚌埠医学院科研基金资助项目(BY0320)

[作者单位] 蚌埠医学院附属医院 骨科, 安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 王宵光(1957-), 男, 安徽合肥人, 主任医师, 副教授。

受体血清血管内皮细胞生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 的表达状况, 旨在探索检测血清 VEGF 是否可作为骨移植疗效的评价指标。

## 1 材料与方 法

1.1 一般资料 1998~2002 年, 收集连续 27 例骨缺损病例, 男 19 例, 女 8 例; 年龄 14~54 岁。其中创伤性骨缺损骨不连 11 例, 骨囊肿 9 例, 骨巨细胞瘤 5 例, 骨肉瘤 2 例。骨缺损的病灶为  $4\text{ cm} \times 3\text{ cm} \times 2\text{ cm} \sim 12\text{ cm} \times 4\text{ cm} \times 3\text{ cm}$ 。

1.2 手术方法 依据病情及患者要求分 3 个治疗组。(1) 血管化-RBX 骨移植组(A 组) 9 例。取自体带血管蒂的髂骨或腓骨, 或做转位或与受区附近的知名动脉做血管吻合术, 修复骨缺损的  $1/2 \sim 2/3$  的体积范围, 其余部分以 RBX 填充。(2) 血管化骨移植组(B 组) 10 例。取自体带血管蒂的髂骨或腓骨, 或做转位或与受区附近的知名动脉做血管吻合术, 修复骨缺损的  $2/3 \sim 3/4$  的体积范围, 残余空腔以自体骨髓腔内血凝块及自体骨碎屑充填。(3) RBX 移植组(C 组) 8 例。将 RBX 的颗粒填充骨空腔。前两组中吻合带腓动脉血管蒂的腓骨移植 3 例, 吻合带旋髂深动脉血管蒂髂骨瓣移植 8 例, 此 11 例术前均做受区血管造影, 以了解受区动脉情况。带旋髂深动脉血管蒂髂骨瓣转位移植 8 例。

1.3 血清 VEGF 测定 (1) 血清制备: 各组术前及术后第 2、4、6、8 周定时采集静脉血,  $4^{\circ}\text{C}$  放置 1 h, 离心收集透明血清(无溶血), 封装于微波消毒试管,

$-20^{\circ}\text{C}$  保存待测。(2) VEGF 测定方法: 采用发光酶免疫分析(双抗体夹心法)。免疫试剂: (1) 抗人 VEGF, McAb 及标准品(Sigma 公司); (2) 发光系统工作液, 由本课题组配制。血清 VEGF 测定值计算, 依据每次测定的 VEGF 标准曲线, 通过电脑直接给出 VEGF 的浓度值(ng/L) 及相关参数。

1.4 临床评价方法 以术后第 3、6、12 个月的 X 线片影像学的表现为评价标准。愈合: 术后 3 个月内移植骨与受体骨的界面有骨小梁穿过, 移植骨的显影略致密, 移植骨仍然较完好充填骨缺损空腔; 延迟愈合: 术后 4~6 个月移植骨与受体骨的界面无骨小梁穿过, 移植骨的显影疏松, 移植骨仍然充填骨缺损空腔的  $80\% \sim 90\%$ ; 不愈合: 术后 12 个月以上移植骨与受体骨的界面有明显的间隙, 移植骨的显影明显疏松, 移植骨充填骨缺损空腔在  $60\%$  以下。

1.5 统计学方法 采用方差分析和  $q$  检验及秩和检验。

## 2 结果

3 组治疗结果见表 1。3 组患者血清 VEGF 值的比较见表 2。

表 1 3 组患者临床疗效比较( $n$ )

分组	$n$	愈合	延迟愈合	不愈合	$H_c$	$P$
血管化骨-RBX 组	9	8	1	0		
血管化骨组	10	6	3	1	5.07	$> 0.05$
RBX 组	8	3	3	2		
合计	27	17	7	3		

表 2 3 组患者血清 VEGF 值的比较( $\bar{x} \pm s$ ; ng/L)

分组	$n$	术前	术后 2 周	术后 4 周	术后 6 周	术后 8 周	$F$	$P$	$MS_{\text{组间}}$
血管化骨-RBX 组	9	$42.3 \pm 11.2$	$821.5 \pm 20.6^{***}$	$878.9 \pm 19.4^{***}$	$50.7 \pm 10.4$	$46.5 \pm 12.1$	7401.38	$< 0.01$	236.146
血管化骨组	10	$43.1 \pm 13.4$	$695.7 \pm 23.8^{***}$	$702.5 \pm 22.6^{***}$	$62.4 \pm 21.8$	$39.6 \pm 15.8$	2886.64	$< 0.01$	396.328
RBX 组	8	$39.9 \pm 14.0$	$456.6 \pm 31.3^{**}$	$512.3 \pm 31.8^{**}$	$41.3 \pm 20.5$	$36.9 \pm 9.7$	996.53	$< 0.01$	540.254
$F$	—	0.14	451.22	465.16	2.99	1.25	—	—	—
$P$	—	$> 0.05$	$< 0.01$	$< 0.01$	$> 0.05$	$> 0.05$	—	—	—
$MS_{\text{组内}}$	—	166.315	639.611	611.933	336.841	169.861	—	—	—

$q$  检验: 术后 2、4 周与术前同组间比较  $^{**}P < 0.01$ ; 术后 2、4 周与 RBX 组比较  $^{\#}P < 0.01$

## 3 讨论

骨缺损的修复常常需要用骨移植的方法治疗, 尽管骨组织具有再生能力, 在一定条件下可自行修复一定的损伤及缺损, 但能力有限, 且修复缓慢, 尤其修复较大的骨缺损更是如此。骨移植的诸多方法

中以自体骨移植效果较好, 但对供骨区有一定的损伤, 且其来源有限, 临床应用受到一定的限制。近年, 重组异种骨的移植, 可以满足临床不同需要。但在临床上, 带有血运的骨移植又比传统的骨移植修复骨缺损具有明显的优势, 不带血运的骨移植只有诱导成骨作用, 使移植骨的吸收和新骨生成同时发

生,只能起到“同步取代”的作用。而带血管蒂的骨瓣移植,可以完整的对合两端填补在骨缺损处,且带血管蒂的骨瓣移植由于保证了骨的主要血液供应,移植后骨细胞及成骨细胞等组织细胞全部存活或大部分存活,其愈合过程类似于双极骨折的愈合过程。这种快捷的修复,已成为共识,但目前带血供的组织工程化骨的移植尚未在临床上应用。本研究应用血管化骨-重组异种骨(RBX)移植修复骨缺损的方法,正是基于以下考虑:(1)有限的切取自体带血管的骨瓣,骨瓣的大小占骨缺损的 $1/2 \sim 2/3$ ,发挥基本骨支架的作用,这样既能保证骨瓣的充分血供,又能合理的减轻供骨区的损伤;(2)残存的缺损区用RBX充填,以维持骨缺损区移植骨与宿主骨的紧密接触,更有利于骨缺损的修复,且RBX中的骨形态生成蛋白(BMP)具有促进骨愈合效应。本文27例骨缺损,按临床疗效评价标准,血管化骨-RBX组9例中有8例于3个月内愈合,观察1年无一例不愈合,骨折愈合率优于单纯血管化骨及单纯RBX组,显示血管化骨-RBX联合移植的临床疗效较优,其最大限度地发挥了自体骨移植的优点,但尚有待积累病例,进一步考察验证。

近几年研究表明<sup>[1,2]</sup>,BMPs最重要的生物活性是参与骨形成和骨再生过程,可单独在体内异位诱导成骨。Guenther与Fleisch等(1986)研究发现,牛主动脉内皮细胞源性生长因子,能明显提高成骨细胞活性及加速成骨形成。近年有文献报道<sup>[3,4]</sup>成骨细胞能分泌VEGF促进血管内皮细胞生长和局

部血管增生,从而在骨形成和修复中发挥重要调节作用。本文3组移植术后血清VEGF的表达都比术前呈不同程度的升高,在术后第4周达峰值,第6及第8周回降到术前水平,血管化骨-RBX组和单纯血管化骨组在术后第4周的血清VEGF值为 $(878.9 \pm 19.4) \text{ ng/L}$ 、 $(702.5 \pm 22.6) \text{ ng/L}$ ,均明显高于单纯RBX移植组 $(512.3 \pm 31.8) \text{ ng/L}$ 。而血管化骨-RBX组的VEGF表达尤显突出。显然,移植骨复合BMPs诱骨效应与VEGF的表达存在一定的相互协调关系,从而参与骨形成及骨缺损的修复作用。反映BMPs对成骨细胞的作用可以通过提高VEGF的表达来实现。同时,也揭示移植骨修复过程中存在有多种生物活性因子的作用机制。笔者认为检测骨移植治疗早期受体血清VEGF表达及其变化动态,可作为评价骨移植早期骨愈合生长状况和疗效的生物分子指标,具有临床应用价值。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [1] Midy V, Pbuert J. Vasculotropin/vascular endothelial growth factor induces differentiation in cultured osteoblasts[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1994, 199(1): 380~386.
- [2] Plouet J, Bayard F. Regulations of vasculotropin/vascular endothelial growth factor bioavailability[J]. *Horm Res*, 1994, 42(1-2): 14~19.
- [3] 杜俊杰,罗卓荆,胡蕴玉,等. rhBMP-2在体内诱导成骨中I、II胶原及碱性磷酸酶的表达[J]. *第四军医大学学报*, 2001, 23(5): 981~983.
- [4] Yeh LC, Lee JC. Osteogenic protein-1 increases gene expression of vascular endothelial growth factor in primary cultures of fetal rat calvaria cells[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 1999, 153(1-2): 113~124.

## 常用药物标准名称摘编(十六)

宜用	不宜用	宜用	不宜用	宜用	不宜用
碘附	碘伏	丙吡胺	达舒平	奎孕酮	醋炔醚
地拉草	地拉齐普	哌替啶	地美露	青光安	磺三甲糠胺
碘曲仑	碘十醇	度米芬	杜灭芬	乙酰唑胺	醋酞酰胺
氟哌利多	哒罗哌 茶	格列本脲	达安疗	格列齐特	达美康
地芬尼多	戴芬逸多	达卡巴嗪	氮烯咪胺	依拉地平	导脉顺
卡马西平	得理多	特非那定	得敏功	萘甲唑林	滴鼻净
奥沙拉秦	地泊坦	辛可卡因	地布卡因	碘赛罗宁	碘甲腺氨酸
碘解磷定	碘磷定	齐多夫定	叠氮胸苷	布美他尼	茶氨酸
妥洛特罗	氯喘	枸橼酸铋钾	德诺	硫代硫酸钠	大苏打
乙酰麦迪霉素	醋酸麦迪霉素	洋地黄毒甙	狄吉妥辛	对乙酰氨基酚	醋酞酚

[ 摘自:《国家基本药物(西药)》(1999年版)、《中国药典》(1995年版)和药典委员会《药名词汇》]