

· 论 著 ·

动脉溶栓联合自体骨髓间充质干细胞治疗股骨头坏死

史 跃¹, 王安明¹, 陈启忠², 朱丽丽¹, 刘军权³, 丁 凯⁴, 高从敬¹

[摘要] **目的** 探讨经动脉溶栓联合自体骨髓间充质干细胞(MSC)灌注介入治疗股骨头缺血性坏死的疗效。**方法** 观察组 30 例股骨头坏死患者采用 seldinger 技术,经皮-股动脉穿刺将导管送至股骨头供养动脉,灌注尿激酶 40 万 U,罂粟碱 30 mg。然后经旋股内动脉灌注 MSC 悬液 20 ml, MSC 数量约为 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8$ 个。并与同期单纯采用动脉溶栓介入治疗 34 例作比较。**结果** 观察组股骨头、颈区域狭窄闭塞血管再通,股骨头血管染色区域明显增大,坏死区域逐渐缩小 29 例。观察组治疗前后关节活动度比较有显著性差异($P < 0.01$),观察组有效率及临床治愈率均高于对照组。**结论** 经动脉溶栓后灌注自体骨髓间充质干细胞治疗股骨头缺血性坏死可以提高疗效。

[关键词] 股骨头缺血性坏死;骨髓间充质干细胞;动脉灌注;数字减影血管造影;介入治疗

中图分类号: R681.8 文献标志码: A 文章编号: 1672-271X(2010)01-0027-03

Treatment for femoral head necrosis by combining arterial thrombolysis with marrow mesenchymal stem cells

SHI Yue¹, WANG An-ming¹, CHEN Qi-zhong², ZHU Li-li¹, LIU Jun-quan³, DING Kai⁴, GAO Cong-jing¹.

1. Department of Radiology; 2. Department of Emergency; 3. Department of Medical Laboratory; 4. Department of Hematology, 97 Hospital of PLA, Xuzhou, Jiangsu 221004, China

[Abstract] **Objective** To explore the effect of arterial interventional thrombolysis combining with injection of autologous bone marrow mesenchymal stem cells(MSC) on the treatment for avascular necrosis of the femoral head (ANFH). **Methods** By using the seldinger technique, the catheter was introduced to the supplying artery of the femoral head through the femoral artery on 30 patients of ANFH. Urokinase 4×10^5 U and papaverine 30mg were injected into the supplying artery, and $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8$ MSC were injected into the femoral circumflex artery. 34 patients of ANFH who received arterial interventional thrombolysis only were used as controls. **Results** The stenosis and obstruct vessel of the femoral head and neck area in 29 studied patients were revascularized, in which the area of vessel staining of the femoral head increased obviously and necrosis area of the femoral head gradually decreased. The range of motion of the joint was significantly different before and after treatment ($P < 0.01$). The efficiency and cure rate of the study group were higher than that of controlled group. **Conclusion** It is feasible to treat ANFH by arterial interventional thrombolysis combining with injection of autologous bone marrow mesenchymal stem cells.

[Key words] femoral head avascular necrosis; mesenchymal stem cells; arterial perfusion; digital subtraction angiography; interventional treatment

近年来,干细胞的移植和组织工程是最引人关注的课题,自体骨髓间充质干细胞(MSC)移植在骨坏死的治疗领域中得到应用。我科采用动脉溶栓联合自体灌注介入治疗股骨头缺血性坏死 30 例,取得了满意的疗效,报告如下。

作者简介: 史 跃(1966-),男,江苏睢宁人,本科,主治医师,从事肿瘤及血管微创介入治疗

作者单位: 221004 江苏徐州,解放军 97 医院,1. 医学影像科,2. 急诊科,3. 实验科,4. 血液科

1 资料与方法

1.1 一般资料 2006 年 1 月至 2008 年 12 月,采用动脉溶栓联合自体 MSC 治疗股骨头缺血性坏死患者 30 例(观察组)。其中 16 例有外伤史,28 例有饮酒史,无大量应用激素。单侧 21 例,双侧 9 例。男 24 例,女 6 例。年龄 26~48 岁,平均 36.5 岁。病史 3 个月~1 年。并与同期单纯采用介入导向动脉溶栓 34 例(对照组)作比较。全部病例均有治疗前、

后血管造影片及 CT、MRI 片,诊断明确。Ficat 和 Arlet 分期^[1]:观察组 I 期 2 例,Ⅱ期 18 例,Ⅲ期 7 例,Ⅳ期 3 例;对照组 I 期 1 例,Ⅱ期 16 例,Ⅲ期 11 例,Ⅳ期 6 例。两组比较无统计学意义($P > 0.05$),有可比性。

1.2 骨髓间充质干细胞培养方法 抽取患者骨髓 20 ml,肝素抗凝,用人 MSC 分离液分离单个核细胞,吸取单个核细胞,用 pH7.4 PBS 洗 3 次,将细胞悬浮于 15% 胎牛血清 DMEM F12 培养基中,置 37℃,5% CO₂ 培养箱中培养。3 天后弃悬浮细胞继续用上述培养基培养贴壁细胞,细胞生长至底面积的 70% 时用乙二酸四乙氨二钠(EDTA)胰酶消化贴壁细胞后传代培养。标本从采集到分离时间不超过 1 h。显微镜下每天观察细胞生长及增殖情况。分别取各代 MSC,置于有小玻片的 6 孔板中,待细胞 80%~90% 贴壁生长后取出,用 10% 中性甲醛固定,苏木精染色,显微镜下观察细胞形态。经 3~5 代培养后 MSC 即可达到治疗数量。细胞培养板更换含有 10⁻⁷ mmol/L 地塞米松、10 mmol/L β-磷酸甘油、0.05 mmol/L 维生素 C 和 15% 胎牛血清的成骨分化诱导液,培养 3 周,每周换液 2 次,分别于诱导的第 7、14 天取出部分细胞固定,观察细胞形态学变化并进行组织学染色。收集体外向成骨细胞诱导第 14 天的 MSC 制备成 20 ml 细胞悬液供患者治疗使用,MSC 数量约为 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8$ 个。

1.3 主要观察指标^[2] ①临床指标:干细胞移植后随访观察患者髋关节疼痛程度、疼痛性质及疼痛时间变化、行走距离及步态变化、髋关节外展与内旋功能变化。②数字减影血管造影术(DSA)及 X 线摄片检查指标:干细胞移植后 6 个月行股骨头供血动脉造影术,观察血管新生及股骨头供血动脉充盈情况;每 6 个月行髋关节 X 线片检查,观察股骨头区骨质变化。

1.4 关节活动度参照标准^[3] 0 级:髋关节屈伸、外展、内收、外旋、内旋度数总和为 260°~320°为正常;1 级:髋关节屈伸、外展、内收、外旋、内旋度数总和为 259°~190°,功能稍受限,生活基本自理;2 级:为 189°~160°,功能部分受限;3 级:为 159°~130°,功能明显受限;4 级:为 < 130°,功能严重受限。

1.5 治疗方法 常规下采用 seldinger 技术,经皮-股动脉穿刺,用 COOK 或 Cordis 5.0 F Cobra 导管常规行患侧股动脉、髂内动脉 DSA。以 6 ml/s 注射速度,6 帧/s 连续采集图像,连续采集 20 s,根据 DSA 表现,了解旋股内、外动脉、闭孔动脉的起源及股骨头血供。观察组将 5.0 F Cobra 导管选择至患侧旋

股内动脉、旋股外动脉或闭孔动脉,灌注尿激酶 40 万 U,罂粟碱 30 mg。然后经 5.0 F 导管送入 3.0 F 微导管,超选择至旋股内动脉股骨头供养血管分支,经微导管缓慢灌注 MSC 悬液,术后静脉滴注低分子右旋糖酐 500 ml,连续 5 天。对照组将 5.0 F Cobra 导管选择至患侧旋股内动脉、旋股外动脉或闭孔动脉,直接灌注尿激酶 40 万 U,罂粟碱 30 mg。两组间隔 2、4 周再进行第 2、3 次介入治疗,3 次为一疗程。观察股骨头血管数量及粗细变化、血管密度改变及股骨头造影染色情况。嘱患者卧床或患肢避免负重 2~3 个月,在此期间服用钙剂、活血类药物改善微循环,同时进行功能锻炼。

1.6 统计学处理 样本数据组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DSA 表现 本组 64 例股骨头区血供主要由旋股内动脉、旋股外动脉的分支供养(图 1A)。38 例表现为缺血型,观察组 18 例,对照组 20 例,DSA 主要表现为股骨头分支血管稀、细、少或呈落叶后的柳树枝状(图 1B);17 例表现为淤血型,观察组 8 例,对照组 9 例,主要为股骨头区呈团状血管增多,静脉期呈湖状改变(图 1C);9 例表现为混合型,观察组 4 例,对照组 5 例,主要表现为血管阻塞、缺血和淤血同时存在(图 1D)。经过溶栓、扩张血管,动脉灌注体外向成骨细胞诱导第 14 天的 MSC 悬液 20 ml,治疗 1 个疗程后,对比同一时相 DSA 图像,股骨头颈区域血管数量及粗细变化。观察组 29 例表现为狭窄闭塞血管再通或明显出现侧支循环血管,同区域血管明显增多、增粗并延长,静脉回流通畅,股骨头血管染色区域明显增大(图 1E)。

2.2 关节活动度 见表 1。观察组治疗前、后关节活动度比较有显著性差异($P < 0.01$),观察组与对照组治疗后关节活动度的比较无差异($P > 0.05$)。

表 1 两组治疗前、后关节活动度的比较(例)

分组	n	0 级	1 级	2 级	3 级	4 级
观察组						
治疗前	30	0	5	12	7	6
治疗后	30	8	12	7	3	0
对照组						
治疗前	34	0	4	16	9	5
治疗后	34	5	9	13	6	1

2.3 骨质变化的影像学表现 治疗 1 个疗程后,经 6~18 个月的随访观察。早期(3~6 个月)骨囊变区骨质增生硬化不明显,后期(6~18 个月)骨囊变

区缩小,骨质增生硬化明显,股骨头坏死区域逐渐缩小。观察组为 29 例,有效率为 96.7% (29/30);对照组为 29 例,有效率为 85.3% (29/34)。

2.4 髋部疼痛 治疗 1 个疗程后,观察组疼痛消失

22 例,明显减轻 4 例,轻度减轻 3 例,无变化 1 例,有效率为 96.7% (29/30);对照组疼痛消失 19 例,明显减轻 8 例,轻度减轻 3 例,无变化 4 例,有效率为 88.2% (30/34)。

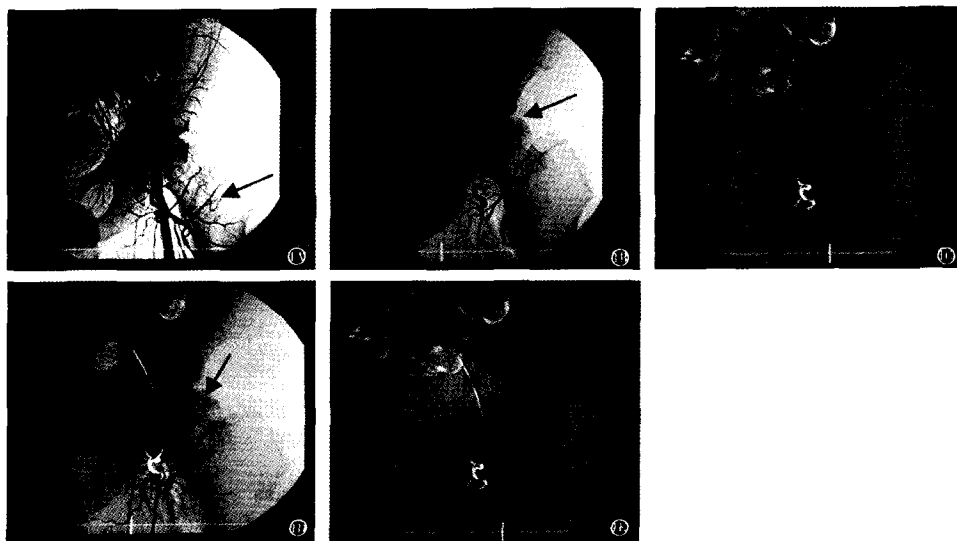


图 1 股骨头缺血性坏死数字减影血管造影表现

1A:股骨头区血供(旋股内、外动脉);1B:缺血型;1C:淤血型;1D:混合型;1E:治疗后

3 讨论

3.1 MSC 治疗股骨头缺血性坏死的临床意义 股骨头缺血性坏死的发病可能与成骨细胞及骨髓基质细胞的功能下降有关^[4]。多项实验及临床研究证实骨髓干细胞体外分离培养后,在一定诱导条件下,可以向血管内皮细胞、神经细胞及成骨细胞方向分化^[5]。我们采用介入法在溶栓的基础上,经旋股内动脉灌注 MSC 悬液,通过对股骨头缺血性坏死 30 例 3 个疗程的治疗,发现股骨头坏死区表现为狭窄闭塞血管再通或明显出现侧支循环血管,同区域血管明显增多、增粗并延长,静脉回流通畅,股骨头血管染色区域明显增大;坏死股骨头囊变区缩小,骨质增生硬化明显,股骨头坏死区域逐渐缩小。

3.2 MSC 治疗股骨头缺血性坏死的前景 随着干细胞工程技术的兴起和发展,干细胞治疗股骨头缺血性坏死成为研究热点。特别是对 MSC 研究的不断深入,股骨头缺血性坏死的发病机理有了新的认识,治疗方法也有了新的进展,给股骨头缺血性坏死带来了新的希望。Hernigou 等^[6]和 Ganji 等^[7]分别使用自体骨髓细胞修复股骨头坏死病灶清除后的缺损,均取得良好疗效。杨晓凤等^[2]使用外周血及骨髓干细胞移植治疗缺血性疾病,证实干细胞形成新生血管直接改善血供。可见通过骨髓干细胞动脉灌注治疗股骨头缺血性坏死,既有利于股骨头血液供

应的恢复,又能提高局部成骨能力,从而促进坏死骨的修复,对早期股骨头坏死的治疗是有利的,目前多与其他疗法合并应用^[8]。

【参考文献】

- [1] 赵德伟. 股骨头缺血性坏死的修复与再造[M]. 北京:人民卫生出版社,1998:19-48.
- [2] 杨晓凤,王红梅,许忆峰,等. 经动脉骨髓干细胞移植治疗股骨头坏死 63 例[J]. 中国临床康复,2006,10(13):3-5.
- [3] 张孟增,刘沧君,路志福,等. 骨髓内减压与加压注药在成人股骨头坏死中的应用[J]. 实用放射学杂志,2001,17(5):369-371.
- [4] Gangji V, Hauzeur JP, Schoutens A, et al. Abnormalities in the replicative capacity of osteoblastic cells in the proximal femur of patients with osteonecrosis of the femoral head[J]. J Rheumatol, 2003,30(2):348-351.
- [5] Xu WR, Qian H, Zhu W, et al. Anorel tumor cell line cloned from mutated human embryonic bone marrow mesenchymal stem cells[J]. Oncology Reports, 2004,12(3):501-508.
- [6] Hernigou P, Beaujean F. Treatment of osteonecrosis with autologous bone marrow grafting[J]. Clin Orthop, 2002,405(1):14-23.
- [7] Ganji V, Hauzeur JP, Matos C. Treatment of osteonecrosis of the femoral head with implantation of autologous bone marrow cells[J]. Bone Joint Surg Am, 2004,86(6):1153-1160.
- [8] Mont MA, Jones LC, Hungerford DS. Nontraumatic osteonecrosis of the femoral head: ten years later[J]. J Bone Joint Surg Am, 2006,88(5):1117-1132.

(收稿日期:2009-08-24;修回日期:2009-10-21)

(本文编辑:黄攸生; 英文编辑:王建东)