

本组临床观察显示,采用中药内服外敷联合功能锻炼治疗 KOA,患者 WOMAC 各维度评分及总分、肿胀和压痛评分均低于对照组,临床疗效优于对照组。提示中医综合疗法可显著减轻患者症状、体征,促进关节功能恢复,值得临床推广应用。

[参考文献]

- [1] 陈义泉,袁太珍.临床关节病学[M].北京:科学技术文献出版社,2010:620-621.
- [2] 中华医学会骨科学分会.骨关节炎诊治指南(2007年版)[J].中国临床医生杂志,2008,36(1):28-29.
- [3] Lequesne M. Indices of severity and disease activity for osteoarthritis[J]. Semin Arthritis Rheum, 1991, 20

(6 Supp12): 48.

- [4] Bellamy N, Buchanan WW, Goldsmith CH, et al. Validation study of WOMAC: a health status instrument for measuring clinically important patient relevant outcomes to antirheumatic drug therapy in patients with osteoarthritis of the hip or knee [J]. J Rheumatol, 1988, 15(12): 1833, 1840-1844.
- [5] 中药新药临床研究指导原则(试行)[M].北京:中国医药科技出版社,2002:349-355.
- [6] 刘存根,彭再加.补阳还五汤加减治疗膝骨关节炎临床观察[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(6):93-95.

(责任编辑:冯天保)

股骨头髓芯减压植骨腓骨支撑联合自体外周血干细胞移植治疗股骨头坏死初步研究

曾建春,樊粤光,曾意荣,蓝海,陈鹏

广州中医药大学第一附属医院,广东 广州 510405

[摘要] 目的:观察股骨头髓芯减压植骨腓骨支撑联合自体外周血干细胞移植治疗股骨头坏死的临床疗效。方法:对8例患者行股骨头髓芯减压植骨支撑联合自体外周血干细胞移植治疗。结果:术后1年,影像学结果示股骨头内坏死区域密度均匀增加,股骨头未发生塌陷,髋关节间隙无变窄,髓白及股骨头周缘无骨质增生,异体腓骨头固定稳定。经重组人粒细胞刺激因子动员后,患者外周血白细胞总数、单核细胞数均较动员前明显升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 单个核细胞比率动员前后变化不大 ($P > 0.05$)。经 COM.TEC 采集干细胞后,白细胞数目、单个核细胞数目均较采集前明显下降 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 单个核细胞比率采集前后变化不大 ($P > 0.05$)。随访1年,患者(并发髋关节感染患者1例除外) Harris 评分较术前明显提高 ($P < 0.01$)。结论:股骨头髓芯减压植骨支撑联合自体外周血干细胞移植治疗股骨头缺血性坏死可取得良好的近期疗效。

[关键词] 股骨头缺血性坏死; 中西医结合疗法; 髓芯减压; 腓骨支撑; 干细胞移植; 补肾活血; 袁氏生脉成骨片

[中图分类号] R681 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2014) 08-0087-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2014.08.040

股骨头缺血性坏死(ONFH)是各种原因导致股骨头内骨髓细胞、骨细胞、脂肪细胞坏死的病理过程,其发病机制不明,治疗方法众多,没有一种方法适合于所有情况的股骨头坏死。自2012年2~6月,本研究采用股骨头髓芯减压植骨腓骨支撑联合自体外周血干细胞移植治疗股骨头坏死,取得良好的短期疗效,结果报道如下。

1 临床资料

1.1 诊断标准 中医诊断标准参照《中药新药临床研究指导原则(试行)》中相关标准确诊;西医诊断标准参照2007年中华医学会骨科分会制定的《股骨头坏死诊断与治疗的专家建议》中相关标准确诊。

1.2 排除标准 不符合纳入标准者;对重组粒细胞刺激

[收稿日期] 2014-03-10

[基金项目] 广东省科技计划项目(编号:2010B031600127);广东省中医药局项目(编号:20131227)

[作者简介] 曾建春(1981-),男,主治医师,主要从事髋膝关节疾病基础与临床研究。

[通讯作者] 曾意荣, E-mail: zeng6612@163.com。

因子发生不良反应者；曾院外行股骨头髓芯减压患者；妊娠、哺乳或正准备妊娠妇女；神经官能症及精神病患者；合并心血管、脑血管、肝、肾、造血系统、内分泌系统等严重原发性疾病；拒绝接受长期临床随访，拒绝参加临床试验者。

1.3 纳入标准 符合中西医诊断标准；国际骨循环研究协会(ARCO)提出的国际分期标准：ARCO 期；日本厚生省骨坏死研究协会(JIC)修订的股骨头坏死的分型：A型、B型；中医辨证属肾虚血瘀证；年龄18~50岁，性别不限；能配合医生顺利完成术后疼痛分级评分；签署研究知情同意书。

1.4 一般资料 所有病例来源于2012年2~6月间在广州中医药大学第一附属医院三骨科接受股骨头髓芯减压植骨支撑联合自体外周血干细胞移植治疗的患者，共8例，男7例，女1例，平均年龄36.5岁(27~45岁)，激素性坏死3例，创伤性坏死2例，酒精性坏死1例，特发性坏死1例，减压病1例，ARCO A期1例，C期7例。

2 治疗方法

2.1 自体外周血干细胞采集 所有患者术前3天接受重组人粒细胞刺激因子(欣粒生，rhG-CSF，北京四环生物制药有限公司)300 μg，皮下注射，每天1次。术晨经血液科COM.TEC全自动细胞分离机(德国)，auto-mnc程序采集自体单个核细胞备用，共分离20 mL。单个核细胞数目采用流式细胞仪计算CD34⁺细胞数。

2.2 手术方式 选择硬腰联合麻醉，选择髋关节外侧切口，自大粗隆最突出点向远端延伸5cm，切开皮肤、皮下组织、阔筋膜，钝性分离股外侧肌，显露股骨近端外侧。C臂X线机透视下自股骨粗隆下经股骨颈钻入导针至股骨头，透视下见导针尖端位于股骨头病灶中心，根据腓骨直径大小选择与之相符合的扩孔铰刀行髓芯减压、清除部分坏死骨质；植入同种异体松质骨粒(山西奥瑞科技有限公司产品)，打压见股骨头内密度增高，植入同种异体腓骨条(山西奥瑞科技有限公司产品)。

2.3 自体外周血干细胞移植 完成手术后，腓骨条髓腔内填塞同种异体松质骨粒；将患者体位向对侧倾斜20°~30°，注射器抽取自体外周血单个核细胞悬液10 mL，接硬膜外穿刺针，经腓骨髓腔注到股骨头内，骨蜡封闭腓骨远端。

2.4 术后处理 给予头孢硫醚预防感染；川芎嗪注射液预防下肢深静脉血栓；口服袁氏生脉成骨片。并口服补肾活血中药，处方：杜仲、黄芪、熟地黄各15g，巴戟天、桃仁、当归、红花、川芎、赤芍、牛膝各10g，炙甘草6g。术后半年内避免负重行走，每3月复查1次双髋正蛙位X线摄片。

3 观察项目与统计学方法

3.1 观察项目 重组人粒细胞刺激因子治疗前后、及自动细胞分离机分离后白细胞及单个核细胞水平变化情况；术前、术后1年Harris评分；手术并发症。

3.2 统计学方法 数据库的录入及统计分析均在SPSS13.0软件包上实现。白细胞计数、单核细胞计数、单核细胞比及Harris评分以($\bar{x} \pm s$)表示，采用自身前后对照配对 t 检验。

4 治疗结果

4.1 治疗后影像学结果 术后1年，影像学结果股骨头内坏死区域密度均匀增加，股骨头未发生塌陷，髋关节间隙无变窄，髌臼及股骨头周缘无骨质增生，异体腓骨头固定稳定。

4.2 重组人粒细胞刺激因子动员前、后外周血WBC、单核细胞比变化 见表1。经重组人粒细胞刺激因子动员3天后，患者外周血白细胞总数、单核细胞数均较动员前明显升高，差异有显著性或非常显著性意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)；单个核细胞比率动员前后变化不大($P > 0.05$)。

表1 重组人粒细胞刺激因子动员前、后外周血WBC、单核细胞比变化比较($\bar{x} \pm s$)

观察指标	动员前	动员后	t 值	P 值
白细胞总数($\times 10^9/L$)	6.87 ± 1.68	47.18 ± 17.71	-5.377	0.003
单核细胞数($\times 10^9/L$)	0.51 ± 0.22	2.81 ± 1.44	-3.696	0.014
单核细胞比(%)	6.79 ± 1.96	5.88 ± 2.09	0.565	0.597

4.3 COM.TEC采集前后外周血WBC、单核细胞比变化比较 见表2。经COM.TEC采集干细胞后，白细胞数目、单个核细胞数目均较采集前明显下降，差异有显著性或非常显著性意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)；单个核细胞比率采集前后变化不大($P > 0.05$)。

表2 COM.TEC采集前后外周血WBC、单核细胞比变化比较($\bar{x} \pm s$)

观察指标	采集前	采集后	t 值	P 值
白细胞总数($\times 10^9/L$)	47.18 ± 17.71	10.29 ± 2.10	5.051	0.004
单核细胞数($\times 10^9/L$)	2.81 ± 1.44	1.11 ± 0.82	2.966	0.031
单核细胞比(%)	5.88 ± 2.09	6.07 ± 1.42	-0.193	0.855

4.4 手术前、后患者Harris评分比较 所有患者均获得随访，平均15.2月(12~17月)，除外并发髋关节感染患者1例，其余患者Harris评分由术前(72.00 ± 7.28)分，提高到术后的(91.86 ± 3.18)分，前后比较，差异有非常显著性意义($P < 0.01$)。

5 讨论

股骨头缺血性坏死的治疗仍然是一个世界难题。保留患者自身股骨头、延缓或避免人工关节置换对年轻患者尤其重要。保留股骨头的股骨头坏死治疗方法很多，对于ARCO 期患者，股骨头髓芯减压植骨、腓骨(自体或异体，带或不带血管)是最常见的方法。但该法术后康复时间长，部分患者依然无法阻止股骨头塌陷，需要再次手术。如何在此基础上进一步提高股骨头坏死疗效，缩短康复时间，是未来急需解决的关键。

在股骨头坏死修复与重建中，血管与骨的新生是一个病理

逆转的关键。如果能在局部增加高浓度干细胞,或使用一些骨生长因子^[1-3],将对促进坏死骨组织的修复产生重要作用。骨髓间充质干细胞是目前最广泛应用的干细胞,本研究采用自体外周血单个核细胞(含间充质干细胞和造血干细胞移植),无免疫原性,无排斥反应。经重组粒细胞刺激因子治疗后,可有效动员外周血中单核细胞进入血液,采用全自动细胞分离机可获得足够的单个核细胞,此方法具有创伤小、来源丰富、费用低廉的优点。

rhG-CSF 不仅能促进骨髓粒系造血祖细胞的增殖、分化,还可以有效地动员骨髓中的单个核细胞,使其大量释放到外周血中,临床上已作为动员剂,动员、采集外周血单个核细胞治疗相关疾病^[4]。本研究采用 rhG-CSF 动员外周血干细胞,用药后 1~3 天,外周血白细胞总数及单核细胞总数逐步升高,第 3 天达到高峰,经全自动细胞分离机 COM.TEC 分离后,可获得足够数目单个核细胞。单个核细胞数目与白细胞总数升高具有一致性,其单核细胞比在 rhG-CSF 刺激前后保持稳定。经采集后,外周血白细胞数目立即下降至接近正常水平,对术后观察无干扰作用。

干细胞虽具有向不同的细胞分化的潜能,但单纯使用 MSCs 移植治疗股骨头坏死的效果并不令人满意^[5],移植后如何促进干细胞向目标细胞分化是目前未能解决的问题。有学者采用基因修饰^[6]的方法促进干细胞向成血管及成骨分化作用。但转染过程复杂,技术要求高,限制了该技术的广泛应用。

中医学认为,“肾主身之骨髓,其充在骨,肾气、肾精充盈才能健骨生髓;肾精虚少,骨髓空虚,则骨骼失养”,股骨头坏死的病机为肾虚血瘀,笔者以补肾活血法治疗股骨头坏死取得良好疗效,认为补肾活血中药能促进骨髓间充质干细胞的体外增殖^[7],降低患者全血黏度、血浆黏度,使患者血液流变学指标向正平衡方向逆转,改善微循环,恢复股骨头血供;降低骨内压^[8];改善血管内皮细胞功能^[9];增加坏死股骨头的骨密度^[10],从而达到促进坏死股骨头的修复的目的。本研究采用补肾活血中药作为体内诱导剂,补肾及活血中药两者可共同促进干细胞增殖,并发挥补肾中药诱导间充质干细胞向成骨细胞分化,活血中药诱导造血干细胞向血管内皮细胞分化,共同促进股骨头坏死区域修复。

总之,干细胞技术的应用为股骨头坏死的治疗开辟了新的篇章。本研究将手术、干细胞移植、中医药三种方法联合治疗股骨头缺血性坏死,有以下几个特点:通过股骨头髓芯减压、植骨,腓骨支撑重建股骨头力学结构的;采用自体外周血干细胞(含间充质干细胞和造血干细胞)移植,具有创伤小、来源丰富、费用低廉的优点;通过口服补肾活血中药诱导间充质干细胞向成骨细胞分化及造血干细胞向血管内皮细胞分化。本观察的近期疗效令人满意,但其远期效果需进一步

观察,且补肾活血中药在体内发挥的作用有待动物实验进一步验证。

[参考文献]

- [1] Lieberman JR, Conduah A, Urist MR. Treatment of osteonecrosis of the femoral head with core decompression and human bone morphogenetic protein [J]. Clin Orthop Relat Res, 2004, 429: 139-145.
- [2] Seyler TM, Marker DR, Ulrich SD, et al. Nonvascularized bone grafting defers joint arthroplasty in hip osteonecrosis [J]. Clin Orthop Relat Res, 2008, 466(5): 1125-1132.
- [3] Yan ZQ, Chen YS, Li WJ, et al. Treatment of osteonecrosis of the femoral head by percutaneous decompression and autologous bone marrow mononuclear cell infusion [J]. Chin J Traumatol, 2006, 9(1): 3-7.
- [4] 王志同,王娟,曹艳华,等.重组人粒细胞刺激因子在干细胞动员中的应用[J].济宁医学院学报,2011,34(5):343-344.
- [5] Tang TT, Lu B, Yue B, et al. Treatment of osteonecrosis of the femoral head with hBMP-gene-modified tissue-engineered bone in goats [J]. J Bone Joint Surg Br, 2007, 89(1): 127-129.
- [6] 刘保一,赵德伟.血管内皮细胞生长因子体外修饰骨髓基质干细胞关节镜下回植治疗兔股骨头坏死的研究[J].中华医学杂志,2009,89(37):2629-2633.
- [7] Zeng Yi-rong, Fan Yue-guang, Liu Hong, et al. Effect of serum containing kidney-tonifying and blood-activating chinese herbs on the in vitro proliferation of rat bone marrow mesenchymal stem cells [J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2008, 12(8): 1851-1855.
- [8] 郑召民,徐振华.骨内高压与活血化瘀[J].中国中医骨伤科杂志,1994,2(3):43.
- [9] 周涛.补肾活血中药对实验性血瘀证大鼠内皮细胞功能的影响[J].中华中医药学刊,2007,25(9):1920-1922.
- [10] 周丕琪,沈霖,杨艳萍.补肾活血中药对兔股骨头缺血性坏死骨密度和生物力学影响的研究[J].中国康复医学杂志,2006,21(12):1139.

(责任编辑:冯天保)