

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.02.032

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2021.02.032>

长骨骨缺损的组织工程治疗现状

黄希 综述 王文波 审校

(哈尔滨医科大学附属第一医院骨三科, 哈尔滨 150001)

[摘要] 临床中长骨骨缺损一直是骨外科治疗的挑战, 通常由开放骨折后骨缺损、骨肿瘤切除骨段、慢性骨髓炎去除死骨等因素导致。尤其是长骨大段骨缺损, 除了大段的骨缺损外常伴有软组织状况不佳或感染倾向。目前国内外治疗手段多样, 骨移植、骨搬移术等已成为主要临床技术。随着干细胞生物学、生长因子、新型生物材料和3D生物打印技术的发展, 新的治疗手段逐渐增多。

[关键词] 长骨骨缺损; 骨缺损; 组织工程; 细胞因子; 富血小板血浆

Current status of tissue engineering therapy on long bone defects

HUANG Xi, WANG Wenbo

(Third Department of Orthopedics, First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China)

Abstract In clinical practice, bone defect of long-bone has always been a challenge in orthopedic surgery, which is usually caused by bone defect after open fracture, segment resection of tumor bone, removing necrotic bone in chronic osteomyelitis and other factors. Especially the massive bone defects of long-bone contain not only the massive bone defects, but also poor soft tissue or infection. At present, there are various domestic and overseas treatment methods including main clinical techniques like bone transplantation and bone transport. With the development of stem cell biology, cytokines, new biomaterials and 3D bio-printing technology, new treatments are gradually increasing.

Keywords bone defects of long-bone; bone defects; tissue engineering; cytokines; platelet rich plasma

长骨骨缺损一直是骨外科治疗的挑战, 当存在感染以及软组织缺损时更是如此^[1]。在动物试验中通常使用临界尺寸的骨缺损模型以评估骨修复效果, 临界尺寸的骨缺损定义为在动物一生中无法自愈的大段骨缺损, 根据以往动物试验所获取的资料, 该骨缺损长度超过长骨直径的1.5倍或

骨缺损大于该骨体积的1/5~1/4^[2]。骨缺损常伴随着软组织状况不佳、感染等, 相比较为短小的骨缺损, 大段(>6 cm)骨缺损修复更加复杂, 有效地控制感染、适当地覆盖软组织、充分地恢复血供以及良好的缺损部位骨再生是决定大段骨缺损成功修复的关键^[3]。传统的长骨骨缺损治疗手段主

收稿日期 (Date of reception): 2019-12-01

通信作者 (Corresponding author): 王文波, Email: Wang_wenbo@aliyun.com

基金项目 (Foundation item): 黑龙江省自然科学基金 (H201454); 黑龙江省普通高等学校骨干教师创新能力资助计划 (1054G028)。This work was supported by the Heilongjiang Provincial Natural Science Foundation (H201454) and Innovation Ability Funding Plan for Key Teachers in Ordinary Institutions of Higher Learning of Heilongjiang Province (1054G028), China.

要包括自体或同种异体骨移植的骨替代治疗、膜诱导及骨搬移的促成骨治疗等。然而, 受限于骨量不足、供体部位受累、治疗期长、骨整合效果不佳、手术技术难度高等问题, 人们已经开始考虑使用组织工程治疗, 如富含血小板的血浆、骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)。随着组织工程学、3D生物打印技术等新兴领域的进展, 这一想法能得以实现, 干细胞以及生物材料相关疗法有望成为新的一线治疗手段。

1 传统治疗手段

1.1 骨移植

既往认为骨移植“金标准”是带血管蒂的自体骨移植。对于大段长骨缺损, 带血管蒂的腓骨移植疗效肯定, 且并发症少^[4-5]。

自体骨移植仍存在一些并发症, 如移植骨骨折、移植后骨不连^[6-7]等, 这些问题可通过二期愈合解决; 此外还存在取骨区骨量不足、神经损伤、感染、应力性骨折、疼痛以及创面愈合等问题^[8]。

与自体骨移植相比, 同种异体骨移植能更精确地匹配骨缺损、避免受区骨量不足。但同种异体骨来源有限, 并且存在移植骨失活、传播疾病、免疫排斥等风险, 骨折、不愈合以及感染等并发症也较多^[9-10]。有学者^[11-12]提出联合自体血管蒂的同种异体骨移植, 研究表明其突出的优势在于提供血运重建的基础、提高愈合率、增强机械强度、减少感染风险。

1.2 骨搬移术

骨搬移术这一概念由Ilizarov^[13-14]率先提出, 又称Ilizarov技术。骨搬移术创伤小、骨愈合时间短、一般不需要额外植骨, 且能解决大部分肢体短缩、移位、关节挛缩或软组织丢失的问题^[15]。

这种骨运输技术的主要缺点之一是巩固期长, 需要的时间大约是治疗期的两倍。文献[16]报道骨搬移术并发症发生率较高, 尤其是在加压-牵引手术中, 急性缩短将导致局部软组织堆积进而影响血运, 不利于断端愈合以及骨新生; 随着牵引长度增加, 并发症发生率也增高, 但与选择不同种类的外固定器无关^[15]。常见并发症包括针道感染、骨断端不愈合或延迟愈合、肌肉挛缩、神经血管损伤^[17]以及精神问题(如患者长期卧床固定的精神压力)等^[15]。

1.3 膜诱导技术

膜诱导(induced membrane, IM)技术, 又称Masquelet技术, 2000年, Masquelet等^[18-19]首次在31例5~25 cm的节段性长骨骨干缺损患者中报道了运用该技术的结果。由于该项技术中作为间隔器的骨水泥可以混合抗生素, 作为局部抗生素释放系统, 缓慢而持续地释放抗生素, 这在感染性骨缺损的治疗中尤其有利^[20-21]。骨缺损的大小、所累及的骨节段、骨缺损类型与骨愈合的时间无关, 这是该技术的优势之一^[21]。近年在世界范围内IM技术得到了越来越广泛的应用。最初IM技术仅仅应用于下肢感染性骨不连而导致的骨量丢失, 现在已经扩展到所有的长骨节段性骨缺损^[19]。

在IM技术治疗长骨骨缺损的治疗分析中发现: 感染复发是最常见的并发症, 也是治疗失败的首要原因, 骨切除不充分、髓腔闭合及抗生素选择不当可能是感染复发的原因^[18,21-22]。此外, 畸形和应力性骨折是其主要的远期并发症^[21-22]。

2 组织工程学、干细胞及生长因子手段

自体骨和异体骨既往作为主要的骨替代物, 但是在有效性、供体部位受累和慢性疼痛方面都有各自的局限性, 并不总是最佳的选择^[23]。因此目前研究提出构建理想的组织工程骨, 为临界尺寸的骨缺损提供模拟人体自然骨愈合过程的环境。不同骨替代材料可以促进成骨和血管生成, 同时有足够的机械强度促进与宿主组织的融合, 并能在康复过程的阶段性负重中提供良好的承重性能^[24-25]; 干细胞以及其他细胞因子相关治疗手段能改造局部“微环境”, 减少并发症, 提高愈合率。

2.1 组织工程学材料

作为支架的骨替代材料必须具有生物相容性、有足够的机械强度来承重、同时具有生物可吸收性。但是正常长骨中, 皮质骨和松质骨的力学性能差异显著: 相互连通的孔隙降低了机械性能(如抗压强度), 但合适的孔隙率确是营养物质向内生长和扩散所必需, 这使得用单一材料构建理想的支架充满了挑战。

陶瓷是一种常用的骨支架材料, 包括生物活性玻璃、磷酸三钙和羟基磷灰石。它们都具有生物相容性、骨传导性, 并存在孔隙以允许组织生长。合成生物可降解聚合物如聚乳酸、聚乙醇酸等被用来外套陶瓷, 以弥补其脆性高、易碎的缺

点^[26]，并提高成骨的潜力^[27]。

天然骨替代材料支架包括胶原蛋白、藻酸盐和透明质酸。这些都具有良好的孔隙率和黏度，以便固定细胞并且释放细胞因子和骨诱导因子，但是它们与聚合物类似，缺乏足够的机械强度^[28-29]。同样，可与其他化合物如羟基磷灰石或壳聚糖结合以增加强度^[30-31]。

除了骨替代的“框架”外，组织工程学技术通过在多孔的骨传导刚性框架中结合负载细胞的水凝胶和人造血管移植物来实现移植物的血供。软水凝胶用于控制细胞和生长因子的分布的时间及部位，而血管移植物的加入可实现即刻的血流灌注；具有类似于骨的结构和力学性能的刚性通道大孔框架可以促进整合并增强新生骨的承重性能，最终的骨整合可能只能通过康复过程的阶段性负重以促进再生骨骼的重塑来实现^[32]。

2.2 干细胞治疗

骨髓间充质干细胞(bone marrow stem cells, BMSC)具有分化为成骨细胞、成脂细胞、软骨细胞、成纤维细胞等的潜能，提供骨生成框架、成骨、释放细胞因子，可以促进骨生长。但是目前研究认为单一应用BMSC疗效尚未确定，与其他疗法联用应用能提高愈合率，减少并发症，临床应用前景广阔^[33-34]。

内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPC)除自身有分化为血管内皮细胞的潜能外，可能以旁分泌的方式分泌促血管生成因子，如VEGF、TGF-β^[35]。一项国外临床研究^[36]发现：如果将BMSC和EPC移植到骨缺损中，在术后8周骨缺损愈合最明显。这些发现表明EPC和BMSC之间存在协同作用，EPC介导的新生血管形成的初始阶段对晚期骨的完全愈合至关重要。在使用合成BMSC和EPC的大鼠骨缺损模型中，观察到同样的正向效应，BMSC和EPC的联合移植对骨愈合和血管化均有同样的积极作用^[37-38]。

此外，造血干细胞以及骨髓单个核细胞也能通过改善血管以及分泌细胞因子促进骨愈合，但是相关机制的研究仍在进行中^[39-40]。

2.3 生长因子相关疗法

生长因子表达于组织愈合的不同阶段，是促进组织再生的关键因素^[41-42]；骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)等也在临床应用中发挥促进骨新生的作用，这些生长因子相关治疗作为骨替代、IM等技术的辅助手段前景可观。

2.3.1 富血小板血浆

富血小板血浆(platelet rich plasma, PRP)是一种血液衍生物，由外周静脉血经过梯度离心后获得，其中血小板浓度高于基线水平，为人类全血的3~17倍，而PRP通常使用CaCl₂或凝血酶激活，激活后其中的血小板α颗粒能释放大量的生长因子，包括血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、胰岛素样生长因子(insulin like growth factor, IGF)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factors, FGFs)、TGF-β和VEGF^[43-44]，从而提供大量生理比例的生物活性分子。

一项研究^[45]分析了2009年至2012年间在华沙军事医学研究所使用PRP治疗132例长骨骨折术后延迟愈合患者的疗效。给予PRP治疗后，108例(81.8%)的患者出现骨愈合，而24例(18.2%)患者无效。作者发现在PRP使用后平均3.5个月，100%的胫骨近端骨折愈合；在PRP使用后平均3.2个月，仅63.64%的肱骨近端骨折愈合，因此作者认为PRP的疗效存在位置依赖性。一项涉及94例患者的案例^[46]也报道了PRP治疗长骨骨不连的有效性。于术后4个月末，有82例(87.23%)患者骨折愈合，未发现并发症。Plachokova等^[47]比较不同物种(大鼠、山羊和人类)的PRP在临界大小颅骨缺损的裸鼠模型中的骨修复作用，均联合异体骨移植或HA/TCP(羟基磷灰石-磷酸三钙)移植。结果显示：未观察到大鼠PRP和山羊PRP的促进成骨作用，而人类PRP联合异体骨移植显著增加了新骨形成。而在人体骨缺损中进行的多项研究^[48-49]表明PRP存在显著的有益作用，Plachokova等^[47]猜测人类PRP可能比动物来源的PRP在修复骨缺损方面更有效。

在这些研究中PRP的制备、最佳血小板浓度、白细胞的存在以及治疗剂量以及治疗的次数和时间，都不尽相同，需要进行进一步的研究以标准化PRP治疗骨缺损。

2.3.2 BMP

BMP是TGF-β的超家族成员，具有优良的骨诱导特性，尤其是BMP-2(包括重组人BMP-2, rhBMP-2)和BMP-7(包括重组人BMP-7, rhBMP-7)，在骨缺损治疗中被广泛研究^[50]。BMP-2能够诱导BMSC向成骨细胞分化，而BMP-7则可以直接促进血管生成。一项绵羊胫骨临界尺寸的缺损模型研究^[51]显示：植入含有BMP-7的合成支架后，骨体积和扭转刚度与自体骨移植术后的结果无明显差异；一项颅骨临界尺寸的骨缺损研究^[52]发现：缺损部位移植聚乙二醇包裹的BMP-2，

相比使用胶原海绵作为载体的BMP-2, 更能增加新骨的生成。以3D打印的多孔支架作为BMP-2传递载体的研究中, 新生骨的扭转强度与天然骨相同^[53]。使用BMP的最大试验是治疗胫骨开放性骨折, 命名为“BMP-2胫骨创伤手术评估”(BMP-2 Evaluation in Surgery for Tibial Trauma, BESTT), 该评估涉及多个临床中心^[54]。在该试验中, 将450例患者随机分为3组, 第一组术中骨缺损区域覆盖含0.75 mg/mL的BMP-2注射液的可吸收胶原海绵, 第二组含1.5 mg/mL BMP-2注射液, 第三组是对照组, 术中未覆盖胶原海绵, 3组均接受常规的软组织管理, 内固定均使用髓内钉。术后12个月, 与对照组相比其余两组胫骨愈合速度更快, 使用1.5 mg/mL BMP-2治疗的患者显示出更明显的骨折愈合组织形成和伤口闭合, 感染率更低, 疼痛更少, 这表明BMP-2治疗胫骨开放性骨折愈合效率高, 且具有剂量依赖性。经过多种动物模型和临床试验的测试后, BMP-2已被FDA和欧洲药品评估局(European Medicines Evaluation Agency, EMEA)批准用于前路腰椎融合术。

2.3.3 VEGF

骨折部位的局部血运被认为是影响骨再生的最重要因素之一, 而VEGF途径是调控血管生成的两种主要激素途径(VEGF途径和血管生成素途径)之一^[55-56]。除了血管生成, VEGF还被证明具有成骨性^[57]。大量的动物研究^[58-61]表明: 外源性VEGF可以促进骨折愈合。Kaigler等^[59]使用单独的生物玻璃或含VEGF的生物玻璃治疗颅骨临界性骨缺损的啮齿动物。在含VEGF的生物玻璃治疗组中观察到血管形成增加和骨质量提高, 但是在新生骨量的评估中2种治疗方式没有显著差异。在同一实验室发表的其他研究^[60]中也记录了相似的结果, 这提示VEGF倾向于促进骨骼成熟, 但不增强新骨形成的数量^[57]。尽管已经证实VEGF在骨折愈合过程中具有促进血管生成的关键作用, 并且已证明了具有较为理想的骨再生结果, 但VEGF在体内非常不稳定且寿命很短, 因此通常需要使用基因技术传递载体。此外, 使用VEGF可能刺激肿瘤复发和存在血管瘤形成的风险, 特别是对于放疗或肿瘤切除后的患者, 严格限制了VEGF在临床试验中的应用^[61], 并且VEGF的剂量在应用中必须非常精确^[57]。

3 结语

长骨大段骨缺损仍然是骨科治疗中最具挑

战性的疾病之一。本文介绍了几种传统与新兴技术, 每种技术都有其优缺点。骨搬移术以及骨移植一直是治疗的主要手段, 虽然两种方法都有良好的临床结果, 但骨搬移术需要较长的治疗时间, 并且与钉道部位感染的高发生率相关, 而腓骨移植技术要求高, 对于下肢缺损可能不理想。近年来IM技术应用逐渐越来越广泛, 愈合时间大大缩短; 但是, 它确实需要至少2个阶段, 疗程复杂, 技术要求高。当前的基础科学证据表明, 组织工程材料、干细胞以及生长因子相关疗法对临界性骨缺损和长骨骨缺损愈合具有若干潜在的有益作用, 仍需在明确这些疗法的治疗效果、并发症和作用机制后, 精心设计随机对照临床试验才能进一步加速其在临床应用的转化。

参考文献

1. Gustilo RB, Mendoza RM, Williams DN. Problems in the management of type III (severe) open fractures: a new classification of type III open fractures[J]. J Trauma, 1984, 24(8): 742-746.
2. Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions[J]. Clin Orthop Relat Res, 1986(205): 299-308.
3. Mauffrey C, Barlow BT, Smith W. Management of segmental bone defects[J]. J Am Acad Orthop Surg, 2015, 23(3): 143-153.
4. Roddy E, Debaun MR, Daoud-Gray A, et al. Treatment of critical-sized bone defects: clinical and tissue engineering perspectives[J]. Eur J Orthop Surg Traumatol, 2018, 28(3): 351-362.
5. Lenze U, Pohlig F, Knebel C, et al. Autologous fibula transplantation for reconstruction of bone defects[J]. Orthopade, 2017, 46(8): 648-655.
6. Lindsey RW, Gugala Z, Milne E, et al. The efficacy of cylindrical titanium mesh cage for the reconstruction of a critical-size canine segmental femoral diaphyseal defect[J]. J Orthop Res, 2006, 24(7): 1438-1453.
7. Taylor GI, Miller GD, Ham FJ. The free vascularized bone graft. A clinical extension of microvascular techniques[J]. Plast Reconstr Surg, 1975, 55(5): S33-S44.
8. Tosounidis TH, Giannoudis PV. Biological facet of segmental bone loss reconstruction[J]. J Orthop Trauma, 2017, 31(Suppl 5): S27-S31.
9. Halim AS, Chai SC, Wan Ismail WF, et al. Long-term outcome of free fibula osteocutaneous flap and massive allograft in the reconstruction of long bone defect[J]. J Plast Reconstr Aesthet Surg, 2015, 68(12): 1755-1762.
10. Grover V, Kapoor A, Malhotra R, et al. Bone allografts: a review of safety and efficacy[J]. Indian J Dent Res, 2011, 22(3): 496.

11. Zekry KM, Yamamoto N, Hayashi K, et al. Reconstruction of intercalary bone defect after resection of malignant bone tumor[J]. *J Orthop Surg (Hong Kong)*. 2019, 27(1): 2309499019832970.
12. Rajasekaran RB, Jayaramaraju D, Venkataramani H, et al. Successful reconstruction of a post-traumatic defect of 16 cm of the distal femur by modified Capanna's technique (vascularised free fibula combined with allograft)—A case report and technical note[J]. *Trauma Case Rep*, 2018, 17: 29-32.
13. Ilizarov GA. The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues: Part II. The influence of the rate and frequency of distraction[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 1989 (239): 263-285.
14. Ilizarov GA. The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues. Part I. The influence of stability of fixation and soft-tissue preservation[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 1989(238): 249-281.
15. Aktuglu K, Erol K, Vahabi A. Ilizarov bone transport andF treatment of critical-sized tibial bone defects: a narrative review[J]. *J Orthop Traumatol*, 2019, 20(1): 22.
16. Spiegl U, Patzold R, Friederichs J, et al. Clinical course, complication rate and outcome of segmental resection and distraction osteogenesis after chronic tibial osteitis[J]. *Injury*, 2013, 44(8): 1049-56.
17. Yanagisawa Y, Hara Y, Nozawa D, et al. Treatment of periprosthetic humeral shaft fracture after total elbow arthroplasty in an osteoporotic patient, using the ilizarov external ring fixator: a case report[J]. *J Orthop Case Rep*, 2018, 8(4): 82-85.
18. Mauffrey C, Hake ME, Chadyammuri V, et al. Reconstruction of long bone infections using the induced membrane technique: tips and tricks[J]. *J Orthop Trauma*, 2016, 30(6): e188-e193.
19. Masquelet AC. Induced membrane technique: pearls and pitfalls[J]. *J Orthop Trauma*, 2017, 31(Suppl 5): S36-S38.
20. Morelli I, Drago L, George DA, et al. Masquelet technique: myth or reality? A systematic review and meta-analysis[J]. *Injury*, 2016, 47(Suppl 6): S68-S76.
21. Azi ML, Teixeira AA, Cotias RB, et al. Membrane induced osteogenesis in the management of posttraumatic bone defects[J]. *J Orthop Trauma*, 2016, 30(10): 545-550.
22. Masquelet AC, Fitoussi F, Begue T, et al. Reconstruction of the long bones by the induced membrane and spongy autograft[J]. *Ann Chir Plast Esthet*, 2000, 45(3): 346-353.
23. Sarkar MR, Augat P, Shefelbine SJ, et al. Bone formation in a long bone defect model using a platelet-rich plasma-loaded collagen scaffold[J]. *Biomaterials*, 2006, 27(9): 1817-1823.
24. Tierney CM, Haugh MG, Liedl J, et al. The effects of collagen concentration and crosslink density on the biological, structural and mechanical properties of collagen-GAG scaffolds for bone tissue engineering[J]. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2009, 2(2): 202-209.
25. Cha JK, Lee JS, Kim MS, et al. Sinus augmentation using BMP-2 in a bovine hydroxyapatite/collagen carrier in dogs[J]. *J Clin Periodontol*, 2014, 41(1): 86-93.
26. Rezwan K, Chen QZ, Blaker JJ, et al. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering[J]. *Biomaterials*, 2006, 27(18): 3413-3431.
27. Kang Y, Scully A, Young DA, et al. Enhanced mechanical performance and biological evaluation of a PLGA coated beta-TCP composite scaffold for load-bearing applications[J]. *Eur Polym J*, 2011, 47(8): 1569-1577.
28. Jin HH, Kim DH, Kim TW, et al. In vivo evaluation of porous hydroxyapatite/chitosan-alginate composite scaffolds for bone tissue engineering[J]. *Int J Biol Macromol*, 2012, 51(5): 1079-1085.
29. Lin JH, Chen CK, Wen SP, et al. Poly-L-lactide/sodium alginate/chitosan microsphere hybrid scaffolds made with braiding manufacture and adhesion technique: Solution to the incongruence between porosity and compressive strength[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2015, 52: 111-120.
30. Lyons FG, Gleeson JP, Partap S, et al. Novel microhydroxyapatite particles in a collagen scaffold: a bioactive bone void filler?[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2014, 472(4): 1318-1328.
31. Quinlan E, Thompson EM, Matsiko A, et al. Long-term controlled delivery of rhBMP-2 from collagen-hydroxyapatite scaffolds for superior bone tissue regeneration[J]. *J Control Release*, 2015, 207: 112-119.
32. Mercado-Pagan AE, Stahl AM, Shanjani Y, et al. Vascularization in bone tissue engineering constructs[J]. *Ann Biomed Eng*, 2015, 43(3): 718-729.
33. Buda R, Vannini F, Cavallo M, et al. One-step bone marrow-derived cell transplantation in talarosteochondral lesions: mid-term results[J]. *Joints*, 2013, 1(3): 102-107.
34. Giannini S, Buda R, Battaglia M, et al. One-step repair in talar osteochondral lesions: 4-year clinical results and t2-mapping capability in outcome prediction[J]. *Am J Sports Med*, 2013, 41(3): 511-518.
35. Zhang SJ, Zhang H, Wei YJ, et al. Adult endothelial progenitor cells from human peripheral blood maintain monocyte/macrophage function throughout in vitro culture[J]. *Cell Res*, 2006, 16(6): 577-584.
36. Seebach C, Henrich D, Kahling C, et al. Endothelial progenitor cells and mesenchymal stem cells seeded onto beta-TCP granules enhance early vascularization and bone healing in a critical-sized bone defect in rats[J]. *Tissue Eng Part A*, 2010, 16(6): 1961-1970.
37. Zhang R, Liu J, Yu S, et al. Osteoprotegerin (OPG) promotes recruitment of endothelial progenitor cells (EPCs) via CXCR4 signaling pathway to improve bone defect repair[J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 5572-5579.
38. Peng J, Chen L, Peng K, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells and endothelial progenitor cells co-culture enhances large segment

- bone defect repair[J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2019, 15(4): 742-755.
39. Janko M, Dietz K, Rachor J, et al. Improvement of bone healing by neutralization of microRNA-335-5p, but not by neutralization of microRNA-92A in bone marrow mononuclear cells transplanted into a large femur defect of the rat[J]. *Tissue Eng Part A*, 2019, 25(1/2): 55-68.
40. Janko M, Sahm J, Schaible A, et al. Comparison of three different types of scaffolds preseeded with human bone marrow mononuclear cells on the bone healing in a femoral critical size defect model of the athymic rat[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2018, 12(3): 653-666.
41. Mochizuki M, Guc E, Park AJ, et al. Growth factors with enhanced syndecan binding generate tonic signalling and promote tissue healing[J]. *Nat Biomed Eng*, 2020, 4(4): 463-475.
42. Pardiñas López S, Iocca O, Khouly I. Three-dimensional bone evaluation after surgical treatment with plasma rich in growth factors of Medication Related Osteonecrosis of the Jaw (MRONJ): A report of 3 cases[J]. *Bone Rep*, 2019, 10: 100208.
43. Sampson S, Gerhardt M, Mandelbaum B. Platelet rich plasma injection grafts for musculoskeletal injuries: a review[J]. *Curr Rev Musculoskelet Med*, 2008, 1(3/4): 165-174.
44. Masuki H, Okudera T, Watanebe T, et al. Growth factor and pro-inflammatory cytokine contents in platelet-rich plasma (PRP), plasma rich in growth factors (PRGF), advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), and concentrated growth factors (CGF)[J]. *Int J Implant Dent*, 2016, 2(1): 19.
45. Golos J, Walinski T, Piekarczyk P, et al. Results of the use of platelet rich plasma in the treatment of delayed union of long bones[J]. *Ortop Traumatol Rehabil*, 2014, 16(4): 397-406.
46. Malhotra R, Kumar V, Garg B, et al. Role of autologous platelet-rich plasma in treatment of long-bone nonunions: a prospective study[J]. *Musculoskelet Surg*, 2015, 99(3): 243-248.
47. Plachokova AS, Van Den Dolder J, Van Den Beucken JJ, et al. Bone regenerative properties of rat, goat and human platelet-rich plasma[J]. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2009, 38(8): 861-869.
48. Weiner BK, Walker M. Efficacy of autologous growth factors in lumbar intertransverse fusions[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2003, 28(17): 1968-1970.
49. Plachokova AS, Nikolidakis D, Mulder J, et al. Effect of platelet-rich plasma on bone regeneration in dentistry: a systematic review[J]. *Clin Oral Implants Res*, 2008, 19(6): 539-545.
50. Einhorn TA, Gerstenfeld LC. Fracture healing: mechanisms and interventions[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2015, 11(1): 45-54.
51. Reichert JC, Cipitria A, Epari DR, et al. A tissue engineering solution for segmental defect regeneration in load-bearing long bones[J]. *Sci Transl Med*, 2012, 4(141): 141ra93.
52. Mariner PD, Wudel JM, Miller DE, et al. Synthetic hydrogel scaffold is an effective vehicle for delivery of INFUSE (rhBMP2) to critical-sized calvaria bone defects in rats[J]. *J Orthop Res*, 2013, 31(3): 401-406.
53. Zhang X, Lou Q, Wang L, et al. Immobilization of BMP-2-derived peptides on 3D-printed porous scaffolds for enhanced osteogenesis[J]. *Biomed Mater*, 2019, 15(1): 015002.
54. Govender S, Csimma C, Genant HK, et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 for treatment of open tibial fractures: a prospective, controlled, randomized study of four hundred and fifty patients[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2002, 84(12): 2123-2134.
55. Tsiridis E, Upadhyay N, Giannoudis P. Molecular aspects of fracture healing: which are the important molecules?[J]. *Injury*, 2007, 38(Suppl 1): S11-S25.
56. Gerstenfeld LC, Cullinane DM, Barnes GL, et al. Fracture healing as a post-natal developmental process: molecular, spatial, and temporal aspects of its regulation[J]. *J Cell Biochem*, 2003, 88(5): 873-884.
57. Keramaris NC, Calori GM, Nikolaou VS, et al. Fracture vascularity and bone healing: a systematic review of the role of VEGF[J]. *Injury*, 2008, 39(Suppl 2): S45-57.
58. Geiger F, Lorenz H, Xu W, et al. VEGF producing bone marrow stromal cells (BMSC) enhance vascularization and resorption of a natural coral bone substitute[J]. *Bone*, 2007, 41(4): 516-522.
59. Kaigler D, Wang Z, Horger K, et al. VEGF scaffolds enhance angiogenesis and bone regeneration in irradiated osseous defects[J]. *J Bone Miner Res*, 2006, 21(5): 735-744.
60. Leach JK, Kaigler D, Wang Z, et al. Coating of VEGF-releasing scaffolds with bioactive glass for angiogenesis and bone regeneration[J]. *Biomaterials*, 2006, 27(17): 3249-3255.
61. Garcia JR, Clark AY, Garcia AJ. Integrin-specific hydrogels functionalized with VEGF for vascularization and bone regeneration of critical-size bone defects[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2016, 104(4): 889-900.

本文引用: 黄希, 王文波. 长骨骨缺损的组织工程治疗现状[J]. 临床与病理杂志, 2021, 41(2): 456-461. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.02.032

Cite this article as: HUANG Xi, WANG Wenbo. Current status of tissue engineering therapy on long bone defects[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2021, 41(2): 456-461. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.02.032