

- Imaging, 2015, 33(5): 516-524.
- [13] THOMSEN H S. Guidelines for contrast media from the European society of urogenital radiology[J]. Am J Roentgenol, 2003, 181(6): 1463-1471.
- [14] ZHANG W, CHEN C, LIU P, et al. Impact of pelvic MRI in routine clinical practice on staging of IB2-IIA2 cervical cancer[J]. Cancer Manag Res, 2019, 11: 3603-3609.
- [15] BRITO A E T, MATUSHITA C, ESTEVES F, et al. Cervical cancer: staging and restaging with ¹⁸F-FDG PET/CT[J]. Rev Assoc Med Bras, 2019, 65(4): 568-575.
- [16] DRAGHINI L, COSTANTINI S, VICENZI L, et al. Positron emission tomography for staging locally advanced cervical cancer and assessing intensity modulated radiotherapy approach[J]. Radiol Med, 2019, 124(9): 819-825.
- [17] LIN A, MA S, DEHDASHTI F, et al. Detection of distant metastatic disease by positron emission tomography with
- ¹⁸F-fluorodeoxyglucose (FDG-PET) at initial staging of cervical carcinoma[J]. Int J Gynecol Cancer, 2019, 29(3): 487-491.
- [18] CARESIA-ARÓZTEGUI A P, DELGADO-BOLTON R C, ALVAREZ-RUIZ S, et al. ¹⁸F-FDG PET/CT in locally advanced cervical cancer: a review[J]. Rev Esp Med Nucl Imagen Mol, 2019, 38(1): 59-68.
- [19] LEE L K, KILCOYNE A, GOLDBERG-STEIN S, et al. FDG PET-CT of genitourinary and gynecologic tumors: overcoming the challenges of evaluating the abdomen and pelvis[J]. Semin Roentgenol, 2016, 51(1): 2-11.
- [20] CEGLA P, URBANSKI B, BURCHARDT E, et al. Influence of ¹⁸F-FDG-PET/CT on staging of cervical cancer[J]. Nuklearmedizin, 2019, 58(1): 17-22.
- (收稿日期: 2020-09-16 修回日期: 2021-02-02)

• 综 述 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2021.09.044

PRP 在骨修复与再生中的研究进展

余 建¹, 马 华¹, 赵 奎¹综述, 卢 曼^{2△}审校

1. 湖北省宜都市第一人民医院骨科, 湖北宜都 443300; 2. 博生吉安科细胞技术有限公司, 安徽合肥 230000

关键词: 富血小板血浆; 修复; 再生

中图法分类号: R457.1+4; R683

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2021)09-1333-04

富血小板血浆(PRP)是从全血中提取出来的含有超过基线水平数倍的血小板浓缩物。PRP 的概念始于血液学领域, 20 世纪 70 年代血液病学专家提出 PRP 这一术语, 目的是描述最初被用来治疗血小板减少症患者而输注的血小板计数高于外周血的血浆^[1]。进一步的研究发现, 当 PRP 被激活后, 其细胞质内含有的 α 颗粒和致密颗粒会释放出大量的生长因子和细胞因子, 如血小板源性生长因子(PDGF)、转化生长因子-β(TGF-β)、血管内皮生长因子(VEGF)、表皮生长因子(EGF)、肝细胞生长因子(HGF)、成纤维细胞生长因子(FGF)、胰岛素样生长因子(IGF)-1 等, 通过多种信号通路介导细胞增殖分化、胶原等细胞外基质合成、新生血管形成^[2], 进而促进肌腱、韧带、周围神经、软骨和骨等多种组织的修复与再生。由于 PRP 具有以上生物学活性, 加之其来源于自体, 无免疫排斥和感染输血相关传染病的风险, 且对机体损伤小、来源丰富、取材方便、制备简单、使用不涉及伦理与合法性的问题, 近年来已广泛应用于口腔颌面外科、骨科、心胸外科、神经外科、烧伤科、普外科、妇科、眼科

和整形美容科等。但 PRP 应用于临床仍缺乏公认的使用标准和治疗指南, 其制备还没有统一的标准, 且 PRP 成分复杂, 临床使用的各种 PRP 产品的制备方法、水平和组分不尽相同, 研究结论亦不统一, 一些研究甚至得出了相反的结论。本文对 PRP 的制备、分类及在骨修复与再生中的应用进行总结。

1 PRP 的制备及分类

PRP 的制备方法众多, 目前尚未形成统一的标准, 主要有密度梯度离心法和血浆分离置换法 2 种方法。

1.1 密度梯度离心法 根据血液中各组份沉降系数的不同从全血中分离、提取 PRP。按离心次数分为 1 次离心法、2 次离心法和 3 次离心法。常用的制备法有 Anitua 法、Sonnleitner 法、Petrungaro 法、Landersberg 法、Aghaloo 法等。密度梯度离心法所制备的 PRP 中血小板的水平和活性受离心力、离心时间、离心次数及离心温度等多种因素的影响。

1.2 血浆分离置换法 该方法是使用血细胞分离仪等专业设备将全血分离而获取 PRP 的一种方法。目

△ 通信作者, E-mail: luman6501@163.com。

本文引用格式: 余建, 马华, 赵奎, 等. PRP 在骨修复与再生中的研究进展[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(9): 1333-1336.

前商品化的 PRP 制备系统主要有 Selphyl、Cascade、Plateltex、Regenkit、ACP Arthrex、GPS III、Genesis、SmartPrep2、Proteal、Magellan、Angel、Curasan、RegenLab、RegenPRP、Homemade、JP200、GLO、Kyocera、MyCells、Dr. Shin 等^[1,3]。此类方法对操作技术要求较高,能快速稳定地获得高质量的 PRP,但设备昂贵,且制备的 PRP 不易保存,需专业人员完成,多为血液制品相关机构使用,用于血小板的采集和成分输血,尚未在临床推广。

1.3 PRP 的分类 目前尚无被广泛认可的 PRP 分类方法。2009 年 DOHAN 等^[4]提出了根据血小板和白细胞水平及纤维蛋白含量的分类方法,2016 年 MAGALON 等^[3]提出 DEPA(剂量、效率、纯度、活化)分类法,2017 年 LANA 等^[5]提出了 MARSPILL 分类法,即 M(手工制备或机器制备)、A(激活或未激活)、R(红细胞数量多少)、S(1 次离心还是 2 次离心)、P(血小板水平为全血中血小板水平的倍数,分 2~3 倍、4~6 倍、7~8 倍、9~10 倍)、I(是否有影像学指导)、L(白细胞数量)和 L(是否光激活),进一步丰富了 PRP 的分类。

2 PRP 在骨修复与再生中的应用

虽然骨组织再生能力强,但高能量创伤、疾病、发育畸形、肿瘤切除、骨髓炎、截骨及关节融合手术等仍然可以造成超出骨再生能力的骨缺损,导致骨愈合时间延长或不愈合,出现疼痛、周围关节僵硬、运动功能丧失,甚至引起残疾,给患者身心健康带来极大的危害。目前临床上对于此类疾病的治疗方法均存在一定的弊端,金标准仍然是自体骨移植。自体骨移植通过骨诱导、骨传导和成骨三大生物学特性促进成骨,降低了传染病传播的风险且不会引起免疫反应。自体骨移植也是评价其他骨替代物移植的基准。然而,自体骨移植由于可取的骨量有限、供区易出现并发症(疼痛、出血、感染、手术时间延长、骨折、瘢痕等),使其临床应用受限。长期随访研究发现,同种异体移植物和合成替代物与宿主不能骨整合。为了解决这一问题,人们把目光转向了各种生长因子,如 PRP、骨形态发生蛋白(BMPs)和甲状旁腺激素。

2.1 PRP 在骨折、骨不连中的应用

2.1.1 体外及动物实验研究 PRP 激活后可释放多种生长因子,其中 TGF- β 、VEGF、PDGF、IGF 水平最高,人们对这些生长因子的研究也相对透彻。这些活性物质通过促进胶原再生、提高骨痂形成率及促进组织再生而促进骨修复。体外实验显示:10%(wt/vol)PRP 孵育 24 h 后, MG-63 成骨细胞碱性磷酸酶活性升高,钙化和矿化增强,成骨相关基因(I 型胶原、骨形态发生蛋白-2 和骨钙素)的 mRNA 表达水平

增加^[6]。YIN 等^[7]研究也证实:在体外,去白细胞富血小板血浆(P-PRP)促进人骨髓间充质干细胞(BMSCs)增殖、活化和迁移,促进人脐静脉细胞 EaHy926 管样结构形成,从而促进骨缺损修复。YIN 等^[8]报道 PRP 具有增强肌源间充质干细胞(M-MSCs)修复兔肱骨大段骨缺损的能力,M-MSCs、PRP 联合治疗组骨再生情况明显优于自然修复组、M-MSCs 治疗组和 PRP 治疗组,进一步研究显示其分子机制为 PRP 促进 M-MSCs 迁移、增殖,诱导成骨分化。YAMAKAWA 等^[9]将 PRP 与骨髓基质细胞联合应用治疗大鼠股骨节段缺损,凝胶植入后 8 周,骨髓基质细胞+PRP(血小板计数 $100 \times 10^4 / \mu\text{L}$)组新生骨比骨髓基质细胞组和 PRP 组增加约 3 倍。LÓPEZ 等^[10]报道了一项临床试验,评估富生长因子血浆(PRGF)在治疗狗自然发生的骨折中的应用,43 只尺桡骨或胫腓骨骨折的狗随机分为两组(PRGF 组和生理盐水组),所有骨折均采用外固定支架治疗,PRGF 组术中骨折部位以 PRGF 浸润,结果显示 PRGF 组骨折愈合较快,与生理盐水组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.1.2 临床研究 1998 年 MARX 等^[11]应用 PRP 进行骨缺损修复的临床研究表明,PRP 与自体骨移植联合应用可提高成骨率,促进骨形成。此后,国内外学者围绕 PRP 在骨修复与再生中的应用展开了大量的临床研究,结果各不相同且缺乏有力的支持性证据,多数研究认为 PRP 对骨修复与再生有积极的促进作用,联合使用时效果明显,具体如下。WEI 等^[12]进行了一项前瞻性队列研究以评估 PRP 与同种异体骨移植治疗移位跟骨关节内骨折的效果,276 例 Sanders III 型跟骨骨折患者随机分为 3 组:自体髂骨移植组(101 例)、同种异体骨移植联合 PRP 组(85 例)、同种异体骨移植组(90 例),所有患者均采用跟骨外侧“L”形切口、解剖钢板内固定。研究结果显示:术后 24 个月和 72 个月,自体髂骨移植组与同种异体骨移植联合 PRP 组的影像学参数(Bohler 角、Gissane 角,以及跟骨的长度、宽度和高度)和临床疗效(AOFAS 踝-后足评分)结果相似,均优于同种异体骨移植组($P < 0.05$)。LEE 等^[13]报道,自体骨髓浓缩液联合 PRP 注射有助于促进人胫骨延长术后牵张成骨过程中的骨形成、骨愈合。SAMY^[14]对 PRP 治疗股骨颈骨折的疗效进行了前瞻性研究,60 例患者随机分为两组,每组 30 例,A 组采用闭合复位 3 枚空心螺钉内固定,B 组在 A 组基础上加用 PRP 治疗。研究结果显示,B 组骨折临床及影像学愈合时间均短于 A 组。LOQUERCIO 等^[15]报道,血小板凝胶作为辅助治疗手段可促进良性骨巨细胞瘤大段骨缺损后的骨重建,明显缩短术后骨愈合所需的时间。在一项 PRP 治疗

长骨骨不连的前瞻性研究^[16]中,94 例长骨骨不连患者(胫骨 35 例,股骨 30 例,肱骨 11 例,桡骨 4 例,尺骨 12 例,尺桡骨 2 例)接受 PRP 治疗,在 X 线机监视下,每个骨不连部位注入 15~20 mL 自体 PRP(>2 000 000 个血小板/微升),每月 1 次,临床和影像学评估骨折愈合情况。结果显示:82 例患者 4 个月后骨折愈合,无并发症。GHAFFARPASAND 等^[17]进行了一项随机、双盲、安慰剂对照的临床试验,研究 PRP 对长骨骨不连骨折愈合率的影响,75 例成人长骨(股骨、胫骨、肱骨、尺骨)骨不连患者随机分为 PRP 组(37 例)和生理盐水组(38 例),行髓内钉或切开复位内固定联合自体髂骨移植,分别在骨折处骨膜周围注射 5 mL PRP 和 5 mL 生理盐水,随访并行临床和影像学评估至术后 9 个月。结果发现:PRP 组治愈率明显高于安慰剂组(81.1% vs. 55.3%, $P=0.025$),注射 PRP 还可缩短愈合时间($P=0.046$)。ACOSTA-OLIVO 等^[18]报道了一项前瞻性随机单盲临床试验,研究选取 16 例肱骨干骨折延迟愈合的患者随机分为试验组和对照组,所有患者均采用切开复位 4.5 mm 锁定加压钢板(LCP)内固定联合自体髂骨移植手术治疗,试验组在闭合手术切口前于手术部位应用 PRP,结果显示试验组骨性愈合时间[(19.9±2.25)周]短于对照组[(25.44±2.06)周],差异有统计学意义($P<0.05$)。

然而,PRP 对骨缺损愈合产生负面影响的试验和临床研究并不罕见。KNAPEN 等^[19]进行的动物研究表明,在 12 周的引导骨再生过程中,富白细胞-血小板纤维蛋白(L-PRF)对骨的动力学、骨质和骨量没有影响。FRANKLIN 等^[20]报道 PRP 未能加速狗胫骨高位截骨术后骨愈合。FAOT 等^[21]报道,在为期 4 周的实验中,L-PRF 没有促进兔未超过临界尺寸胫骨骨缺损的修复,且前 2 周内 L-PRF 对骨小梁连接有抑制作用。SINGH 等^[22]进行了一项前瞻性随机对照研究以评估 PRP 在急性股骨骨折愈合中的作用,研究选取 72 例年龄 18~60 岁急性闭合性股骨干骨折患者(男 69 例,女 3 例)随机分为研究组(33 例)和对照组(39 例),研究组行髓内钉内固定联合 PRP 治疗,对照组行单纯髓内钉内固定治疗,每月测量皮质与骨痂的比例,评估骨折愈合情况,结果显示组间差异均无统计学意义($P>0.05$)。作者由此得出结论:PRP 对闭合髓内钉治疗股骨干骨折的愈合无影响。

2.2 PRP 在脊柱融合术中的应用 脊柱融合术是脊柱外科常用术式之一,经过 1 个多世纪的发展,已成为脊柱外科疾病诊治中与神经减压、内植物固定并列的三大必不可少的外科技术,广泛应用于脊柱退变、创伤、畸形等治疗中。然而,10%~40%的患者出现

植骨不愈合、延迟愈合或假关节形成。为了获得良好的融合效果,采用羟基磷灰石、骨形态发生蛋白(BMP)、PRP 等促进骨融合的方法得到了广泛而深入的研究。IMAGAMA 等^[23]进行了一项前瞻性研究,比较 PRP 联合自体骨移植与单纯自体骨移植在腰椎后外侧融合术(PLF)骨愈合中的疗效,并进行了长达 10 年的随访。该研究中对照侧使用椎板和棘突行自体骨移植,试验侧联合使用 PRP 与自体骨移植,通过 CT 测定融合面积和骨吸收情况。研究结果显示:术后 3、6 个月,试验侧骨融合面积明显大于对照侧,两者的面积比明显高于术后 2 周;试验侧骨吸收率明显低于对照侧,且两侧面积比均较术后 2 周小。随访 10 年,未发生与 PRP 相关的不良事件。KUBOTA 等^[24]研究得出类似结论,PLF 中应用 PRP,椎体融合率高,融合块大,骨愈合快。同样,也不乏质疑的声音和不同研究结果^[25-26]。

3 小 结

目前围绕 PRP 的基础研究及临床应用涌现了大量的文献报道^[6-26],研究结果、结论不一,究其原因主要有:(1)PRP 概念与定义混乱,其英文名包括 platelets concentrate(PC)、autologous platelet concentrates(APCs)、plasma rich in growth factors(PRGF)等,制剂中血小板、白细胞、红细胞、纤维蛋白等的水平及激活方式没有统一的标准。(2)分类不一致,制备方法各异。(3)制备、储存缺乏有效、统一的标准化质控,制备出的 PRP 质量参差不齐。(4)使用方法(单独应用还是联合应用、治疗剂量、治疗周期等)无统一指南,一些研究未进行偏倚风险评估,未考虑年龄、性别、疾病类型、疾病进程、药物等对疗效的影响。尽管大多数临床前研究和临床研究表明 PRP 可促进骨再生,为 PRP 在骨修复与再生中的临床应用提供了证据,但关于 PRP 生物学机制的一些关键问题仍然不清楚,如致密颗粒是否对骨愈合产生了潜在的负面影响,对其临床应用还需保持一定的谨慎态度。即便如此,笔者相信 PRP 在骨修复与再生中的临床应用仍具有光明的前景。

参考文献

- [1] ALVES R, GRIMALT R. A review of platelet-rich plasma: history, biology, mechanism of action, and classification[J]. Skin Append Disord, 2018, 4(1): 18-24.
- [2] STEVENS J, KHETARPAL S. Platelet-rich plasma for androgenetic alopecia: a review of the literature and proposed treatment protocol[J]. Int J Women Dermatol, 2018, 5(1): 46-51.
- [3] MAGALON J, CHATEAU A L, BERTRAND B, et al. DEPA classification: a proposal for standardising PRP use

- and a retrospective application of available devices[J]. *BMJ Open Sport Exerc Med*, 2016, 2(1):e000060.
- [4] DOHAN E D M, RASMUSSEN L, ALBREKTSSON T. Classification of platelet concentrates; from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) [J]. *Trends Biotechnol*, 2009, 27(3):158-167.
 - [5] LANA S D, PURITA J, PAULUS C, et al. Contributions for classification of platelet rich plasma proposal of a new classification; MARSPILL [J]. *Regen Med*, 2017, 12(5):565-574.
 - [6] YOU J S, KIM S G, OH J S, et al. Effects of platelet-derived material (platelet-rich fibrin) on bone regeneration [J]. *Implant Dent*, 2019, 28(3):244-255.
 - [7] YIN W, QI X, ZHANG Y, et al. Advantages of pure platelet-rich plasma compared with leukocyte- and platelet-rich plasma in promoting repair of bone defects[J]. *J Transl Med*, 2016, 14(1):73.
 - [8] YIN N, WANG Y, DING L, et al. Platelet-rich plasma enhances the repair capacity of muscle-derived mesenchymal stem cells to large humeral bone defect in rabbits[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):6771.
 - [9] YAMAKAWA J, HASHIMOTO J, TAKANO M, et al. The bone regeneration using bone marrow stromal cells with moderate concentration platelet-rich plasma in femoral segmental defect of rats[J]. *Open Orthop J*, 2017, 11(1):1-11.
 - [10] LÓPEZ S, VILAR J M, SOPENA J J, et al. Assessment of the efficacy of platelet-rich plasma in the treatment of traumatic canine fractures[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(5):1075.
 - [11] MARX R E, CARLSON E R, EICHSTAEDT R M, et al. Platelet-rich plasma; growth factor enhancement for bone grafts[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 1998, 85(6):638-646.
 - [12] WEI L C, LEI G H, SHENG P Y, et al. Efficacy of platelet-rich plasma combined with allograft bone in the management of displaced intra-articular calcaneal fractures: a prospective cohort study[J]. *J Orthop Res*, 2012, 30(10):1570-1576.
 - [13] LEE D H, RYU K J, KIM J W, et al. Bone marrow aspirate concentrate and platelet-rich plasma enhanced bone healing in distraction osteogenesis of the tibia[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2014, 472(12):3789-3797.
 - [14] SAMY A M. The role of platelet rich plasma in management of fracture neck femur; new insights [J]. *Int Orthop*, 2016, 40(5):1019-1024.
 - [15] LOQUERCIO G, DI COSTANZO G, FAZIOLI F, et al. Autologous platelet gel Improves bone reconstruction of large defects in patients with bone giant cell tumors[J]. *In Vivo*, 2015, 29(5):533-540.
 - [16] 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.
 - [17] GHAFFARPASAND F, SHAHREZAEI M, DEGHANKHALILI M. Effects of platelet rich plasma on healing rate of long bone non-union fractures; a randomized double-blind placebo controlled clinical trial [J]. *Bull Emerg Trauma*, 2016, 4(3):134-140.
 - [18] ACOSTA-OLIVO C, GARZA-BORJON A, SIMENTAL-MENDIA M, et al. Delayed union of humeral shaft fractures: comparison of autograft with and without platelet-rich plasma treatment; a randomized, single blinded clinical trial [J]. *Arch Orthop Trauma Surg*, 2017, 137(9):1247-1252.
 - [19] KNAPEN M, GHELDOLF D, DRION P, et al. Effect of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) on bone regeneration; a study in rabbits [J]. *Clin Implant Dent Relat Res*, 2015, 17(Suppl 1):e143-e152.
 - [20] FRANKLIN S P, BURKE E E, HOLMES S P. The effect of platelet-rich plasma on osseous healing in dogs undergoing high tibial osteotomy [J]. *PLoS One*, 2017, 12(5):e0177597.
 - [21] FAOT F, DEPREZ S, VANDAMME K, et al. The effect of L-PRF membranes on bone healing in rabbit tibiae bone defects; micro-CT and biomarker results [J]. *Sci Rep*, 2017, 7:46452.
 - [22] SINGH R, ROHILLA R, GAWANDE J, et al. To evaluate the role of platelet-rich plasma in healing of acute diaphyseal fractures of the femur [J]. *Chin J Traumatol*, 2017, 20(1):39-44.
 - [23] IMAGAMA S, ANDO K, KOBAYASHI K, et al. Efficacy of early fusion with local bone graft and platelet-rich plasma in lumbar spinal fusion surgery followed over 10 years [J]. *Global Spine J*, 2017, 7(8):749-755.
 - [24] KUBOTA G, KAMODA H, ORITA S, et al. Platelet-rich plasma enhances bone union in posterolateral lumbar fusion; a prospective randomized controlled trial [J]. *Spine J*, 2019, 19(2):e34-e40.
 - [25] TSAI C H, HSU H C, CHEN Y J, et al. Using the growth factors-enriched platelet glue in spinal fusion and its efficiency [J]. *J Spinal Disord Tech*, 2009, 22(4):246-250.
 - [26] SYS J, WEYLER J, VAN DER ZIJDEN T, et al. Platelet-rich plasma in mono-segmental posterior lumbar interbody fusion [J]. *Eur Spine J*, 2011, 20(10):1650-1657.