

## 富血小板血浆在口腔颌面外科中的应用

邵山, 徐欣, 马跃, 蓝菁, 黄海云

邵山、徐欣、马跃、蓝菁、黄海云, 济南 山东大学口腔医学院, 250012

富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)是把自体全血经过离心、分离而得到的血液制品, 含有多种大量的自体生长因子, 富含较高浓度的血小板, 实质上是自体源性、浓缩的含血小板的血浆, 故亦称之为血小板凝胶, 富生长因子血小板或自体浓缩血小板。PRP 能够释放多种大量的高浓度生长因子, 主要有血小板衍生生长因子(PDGF)、转化生长因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ )、成纤维细胞生长因子(FGF)和胰岛素样生长因子(IGF)等[1-2]。由于 PRP 来源于自体血液, 无毒性, 无免疫源性, 不会导致传染性疾病的传播, 在临床应用中具有广阔的应用前景。近年来, 大量研究表明 PRP 能显著促进软组织的愈合及骨组织的再生。

### 一、PRP 的制备及其主要成分

1. PRP 的制备: 目前, PRP 的制备方法各种文献报道不尽相同, 所使用的仪器也相差较大。不同的离心次数、离心力和离心时间制作的 PRP 中血小板浓度和生长因子的活性也各不相同。一类是使用一次离心的方法即 Anitua 法[1], 现已经较少使用, 因该法只有一次离心, 所得血小板回收率明显较低, 仅为(35 $\pm$ 16.8)%。另一类为二次离心法得到, 如 Petrungaro、Landesberg、Aghaloo 法等, 目前采用的主要为二次离心得到。两次离心提取 PRP 的原理在于, 根据血液中各组分的沉降系数差异, 使沉降系数最大的红细胞首先沉淀, 弃掉沉淀物后再次离心, 就可以使沉降系数较小的血小板沉淀出来, 得到高浓度血小板。所以, 第一次离心后, 弃去底层红细胞, 经第二次离心时, 只要有足够大的离心力和离心时间, 就可以让更多的血小板沉淀出来。目前, 一种更先进的技术可以使两次离心一次完成, 使较小量的全血分离较高浓度的 PRP。常用的有 HARVEST SmartPreP System[3], Harvest 等应用该仪器制作的 PRP 中血小板为全血血小板浓度的 4.04 倍, 回收率为(78 $\pm$ 15.8)%, 其血小板回收率明显高于 Anitua 法。

2. PRP 的主要成分: PRP 富含由血小板分泌的 7 种与所有创伤愈合过程有关的多种大量蛋白生长因子。这些生长因子包括 3 种同分异构体的血小板衍生生长因子(PDGF  $\alpha\alpha$ 、PDGF  $\beta\beta$ 、PDGF  $\alpha\beta$ )、转化生长因子- $\beta$  1(TGF- $\beta$  1)、转化生长因子- $\beta$  2(TGF- $\beta$  2)、表皮样生长因子(EGF)、血管内皮生长因子(VEGF)、FGF、IGF 等[4], 它也含有血液中存在的 3 种蛋白质: 纤维素、纤粘连蛋白及亲玻粘连蛋白[5]。这些因子对促进细胞的增殖与分化及组织的形成有着极其重要的作用。可以明显促进骨折的愈合及骨缺损的修复与重建[4, 6]。

### 二、PRP 在口腔颌面外科中的应用

PRP 多以凝胶的形式应用, PRP 凝胶是 PRP 与凝血酶和氯化钙混合而成的一种具有黏性的胶状凝块。

1. 颌骨缺损的重建: 传统的骨缺损的治疗方法主要有自体骨移植和同种异体骨移植、生物材料替代、组织工程技术、膜引导技术以及基因治疗等。当前研究较热门的还有利用生长因子与自体骨、异体(种)骨或生物替代材料等混合成复合物, 填充到骨缺损区域, 以达到修复骨缺损的目的。许多研究表明, 单一使用血小板所含的某一生长因子, 即可加速骨组织的修复过程。目前绝大部分的生长因子是通过体外培养而得到的, 比较单一, 而且制备也较为繁琐, 费用昂贵, PRP 中含有大量的生长因子, 被激活后可以分泌释放多种高浓度的生长因子, 其释放的生长因子在骨折愈合的整个过程中起着至关重要的作用[7]。

现在在颌骨缺损的治疗方面已有大量学者把 PRP 应用于动物实验和临床工作中。Fennis 等[8]利用山羊将其下颌角离断制成下颌骨骨折动物模型。首先将 PDLLA 支架预先成形后桥接缺损, 并用自体松质骨复合 PRP 植入下颌骨缺损区, 与单纯植入自体松质骨作为对照组, 术后 3、6、12 周 X 线检测结

果表明复合 PRP 实验组骨愈合程度明显优于对照组。Marx 等[4]采用自体松质骨复合 PRP 修复 88 例下颌骨连续性缺损患者,发现 PRP 实验组较对照组成骨速度提高了 1.62~2.16 倍,同时成骨密度也明显高于对照组。

2. 种植体周围的应用:北京大学口腔医学院利用 PRP 加入植骨材料与新鲜血液混合均匀植入种植体周围骨缺损区域以引导骨组织再生的临床研究中,组织标本经甲苯胺蓝染色后在光镜下以 40~200 倍放大率观察对比实验组与对照组,植入  $\beta$  相磷酸三钙与 PRP 混合物实验组在光镜下可见即使在远离骨壁处,植骨颗粒周围也包绕着较为稠密的蓝染组织,新形成的编织骨排列更为整齐有序,高倍镜下可见到大量蓝染组织侵入  $\beta$  相磷酸三钙颗粒微孔内部,颗粒吸收改建明显。认为 PRP 在促进口腔种植骨缺损区骨组织再生时无论从速度、数量和质量等方面都有一定的促进作用。这一结果与国外学者的报道是一致的[9-11]。Yamada 等[12-13]通过实验根据组织学观察和组织形态测量,表明 PRP 结合自体骨或骨髓组织能有效地促进种植体骨整合。阎旭等[14]采用 X 线片观测、骨密度测定、组织学观察等方法比较狗下颌骨下缘种植体周骨缺损区植入不同材料而形成的新骨的差异,发现 PRP 与人工植骨材料的混合物能促进种植体周围新骨的形成。

3. 牙槽外科:Ueda 等[15]用 PRP 复合骨髓间充质干细胞制成的可注射组织工程骨行牙槽骨增高术获得了较好的成骨效果。Kassolis 等[16]将 PRP 加冻干骨行植入 15 例牙槽嵴增高术和上颌窦提升术患者,发现骨的再生效果好,由此可认为 PRP 加冻干骨植骨是一种非常有效的方法。钟奇帆等[17]在上颌窦底提升术应用 PRP 混合人工骨替代材料的研究证明 PRP 能促进骨的再生与修复,解决了上颌后区牙种植骨量不足的问题。

4. 牵引成骨:动物实验也表明 PRP 可以明显促进牵引成骨过程的新骨生成。骨折愈合过程中需要许多细胞因子参与该过程,而 PRP 中含有丰富的骨生成与改建所需要的细胞因子。BMP 可以直接刺激成骨细胞的增殖和分化,加快骨基质的形成与钙盐沉积,增强成骨细胞对 TGF- $2\beta$  的反应[18]。Robiony 等[19]对 5 例下颌骨严重萎缩且无牙的患者进行骨牵引治疗(DO),并在切开牵引的骨缝内注入自体髂骨松质骨和 PRP 的混合物,经牵引 15 d 固定保持 60 d,全部病例均达到牵引计划要求,证实了 PRP 对骨的再生与修复具有促进作用。国内学者通过体外成骨细胞的培养及牵引成骨动物模型的制备,采用 MTT 法检测成骨细胞的增殖情况,采用组织化学、四环素标记等方法观察骨组织新骨生成情况。发现 PRP 可以促进体外培养成骨细胞的增殖,促进牵引成骨过程新骨的生成,临床应用可缩短牵引成骨的治疗过程[20]。

### 三、发展方向

目前,PRP 在骨组织的修复中所起到的促进作用已被广大的国内外学者认可,在 PRP 的基础和临床研究方面都有了很大的突破。PRP 促进骨修复的机制首先源于其中含有的大量多种高浓度的血小板及其分泌的生长因子联合作用,其中又以 PDGF、TGF- $\beta$  最为重要,满足了骨愈合早期所需的营养因子的需要,又具有凝胶自身所具有的粘合性,具有促进骨组织愈合和修复的功能,既有单一的生物学效应,又有各种生长因子之间的相互作用。当血小板源性生长因子逐渐凋亡以后,局部的组织修复细胞增多,其分泌的巨噬细胞源性的生长因子和血管生长因子逐渐取代血小板源性生长因子,并继续促进骨修复。还有学者对不同血小板浓缩程度的 PRP 对细胞增殖的影响进行了对比研究,认为为促进成骨细胞、成纤维细胞增殖,制作 PRP 时血小板的浓缩程度是有范围限制的[21-23]。

当然还有许多问题亟须解决,例如,不同方法制备的 PRP 内生长因子的性能是否受到不同的影响和破坏,制备的最佳离心速度及时间,在 PRP 中不同生长因子的生物学特性、相互间的作用和促进成骨的作用机制如何,其不同生长因子的最理想的工作浓度或量效关系如何。伴随着人们对 PRP 研究的不断深入,PRP 的应用会更广。

## 参考文献

- [1] Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 1999, 14(4): 529—535. [PubMed]
- [2] Fennis JP, Stoelinga PJ, Jansen JA. Mandibular reconstruction: a clinical and radiographic animal study on the use of autogenous scaffolds and platelet-rich plasma. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2002, 31(3): 281—286. [PubMed]
- [3] Weibrich G, Kleis WK, Buch R, et al. The harvest Smart PRePTM system versus the Friadent-Schutze platelet-rich plasma kit. *Clin Oral Implants Res*, 2003, 14(2): 233—239. [PubMed]
- [4] Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, et al. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 1998, 85(6): 638—646. [PubMed]
- [5] Marx RE. Platelet-rich plasma: Evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg*, 2004, 62(4): 489—496. [PubMed]
- [6] Whitman DH, Berry RL, Green DM, et al. Platelet gel: An autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg*, 1997, 55(11): 1294—1299. [PubMed]
- [7] Bhanot S, Alex JC. Current applications of platelet gels in facial plastic surgery. *Facial Plast Surg*, 2002, 18(1): 27—33. [PubMed]
- [8] Fennis JP, Stoelinga PJ, Merckx MA, et al. Reconstruction of the mandible with a poly(D, L-lactide) scaffold, autogenous corticocancellous bone graft, and autogenous platelet-rich plasma: an animal experiment. *Tissue Eng*, 2005, 11(7—8): 1045—1053. [PubMed]
- [9] 张宇, 林野, 邱立新, 等. 富血小板血浆促进口腔种植骨再生的临床应用研究. *中华口腔医学杂志*, 2004, 39(4): 269—272.
- [10] Rodriguez A, Anastassov GE, Lee H, et al. Maxillary sinus augmentation with deproteinated bovine bone and platelet rich plasma with simultaneous insertion of endosseous implants. *J Oral Maxillofac Surg*, 2003, 61(2): 157—163. [PubMed]
- [11] Maiorana C, Sommariva L, Brivio P, et al. Maxillary sinus augmentation with anorganic bovine bone and autologous platelet-rich plasma: preliminary clinical and histologic evaluations. *Int Periodontics Restorative Dent*, 2003, 23(3): 227—235. [PubMed]
- [12] Yamada Y, Ueda M, Hibi H, et al. Translational research for injectable tissue-engineered bone regeneration using mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma: from basic research to clinical case study. *Cell Transplant*, 2004, 13(4): 343—355. [PubMed]
- [13] Yamada Y, Ueda M, Naiki T, et al. Tissue-engineered injectable bone regeneration for osseointegrated dental implants. *Clin Oral Implants Res*, 2004, 15(5): 589—897. [PubMed]
- [14] 阎旭, 何家才, 周健, 等. 富血小板血浆在口腔种植体周骨缺损中的应用, *安徽医科大学学报*, 2007, 42(1): 106—108.
- [15] Ueda M, Yamada Y, Ozawa R, et al. Clinical case reports of injectable tissue-engineered bone for alveolar augmentation with simultaneous implant placement. *Int J*

Periodontics Restorative Dent, 2005, 25(2): 129—137. [PubMed]

[16] Kassolis JD, Kassolis JD, Rosen PS, et al. Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series. *Periodontol*, 2000, 71(10): 1654—1661. [PubMed]

[17] 钟奇帜, 陈卓凡, 曾融生. 人工骨替代材料混合富血小板血浆在上颌窦底提升术中的应用研究. *中国口腔种植学杂志*, 2006, 11(2): 93—95.

[18] Kawasaki K, Aihara M, Honmo J, et al. Effects of recombinant human bone morphogenetic protein 22 on differentiation of cells isolated from human bone, muscle, and skin. *Bone*, 1998, 23(3): 223—231. [PubMed]

[19] Robiony M, Polini F, Costa F, et al. Osteogenesis distraction and platelet-rich plasma for bone restoration of the severely atrophic mandible: preliminary results. *J Oral Maxillofac Surg*, 2002, 60(6): 630—635. [PubMed]

[20] 骆泉丰, 王兴, 王晓霞, 等. 富含血小板血浆对牵引成骨过程中新骨生成的影响. *中华整形外科杂志*, 2004, 20(5): 376—379.

[21] Ferreira CF, Carriel-Gomes MC, Filbo JS, et al. Platelet-rich plasma influence on human osteoblasts growth. *Clin Oral Implants Res*, 2005, 16(4): 456—460. [PubMed]

[22] Choi BH, Zhu SJ, Kim BY, et al. Effect of platelet-rich plasma (PRP) concentration on the viability and proliferation of alveolar bone cells: an in vitro study. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2005, 34(4): 420—424. [PubMed]

[23] Graziani F, Cei S, Ducci F, et al. In vitro effects of different concentration of PRP on primary bone and gingival cell lines. Preliminary results. *Minerva Stomatol*, 2005, 54(1—2): 15—22. [PubMed]