

• 综述 •

浓缩生长因子在种植软硬组织增量方面的研究及应用

王瑜 王伟 顾新华

浙江大学医学院附属第一医院口腔科 杭州 310003

[摘要] 浓缩生长因子作为新一代血小板浓缩制品, 内含纤维蛋白及多种生长因子, 对组织的修复再生具有重要意义。本文就浓缩生长因子的发展过程、制备、主要成分以及与口腔种植软组织和硬组织增量相关的研究、应用进行综述。

[关键词] 浓缩生长因子; 生长因子; 种植; 组织增量

[中图分类号] R 782.2⁺⁴ **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/gjkq.2019026



开放科学 (资源服务)
标识码 (OSID)

Research and application of concentrated growth factor in soft and hard tissue increment of implants Wang Yu, Wang Wei, Gu Xinhua. (Dept. of Stomatology, The First Affiliated Hospital, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310003, China)

This study was supported by Medical and Health Science and Technology Program of Zhejiang Province (2018KY059).

[Abstract] As a new generation of platelet concentrates, concentrated growth factor contains fibrin and many kinds of growth factors, which are of great importance to tissue regeneration. This article reviews the development, preparation, main components, related research and application of concentrated growth factor in soft and hard tissue increment of implants.

[Key words] concentrated growth factor; growth factor; implant; tissue increment

浓缩生长因子 (concentrated growth factor) 作为继富血小板血浆 (platelet rich plasma) 与富血小板纤维蛋白 (platelet rich fibrin) 后的新一代血小板浓缩制品, 最早于2006年提出, 其所含的纤维蛋白及大量生长因子对组织修复、再生具有重要意义。作为再生医疗领域中的新兴技术, 浓缩生长因子在口腔种植、牙周、颌面外科等多个领域体现出其独特优势。

1 浓缩生长因子的发展过程

血浆提取物的的发展大致经历富血小板血浆、富血小板纤维蛋白以及浓缩生长因子3个阶段。

富血小板血浆于1984年由Assoian等^[1]最先提出, 研究发现通过自体全血梯度离心后获得的血小板浓缩物与10%氯化钙、牛凝血酶混合, 可启动血凝的最后一个阶段及快速的纤维蛋白聚集, 在激活血小板和蛋白凝胶的过程中, 短时间内释放出大量生长因子。1997年, Whitman等^[2]率先将自体富血小板血浆应用于口腔颌面部骨缺损的修复, 取得良好效果。但是, 目前对于富血小板血浆的使用尚存在争议。因其在制备过程中需2次离心, 增加了污染的概率, 而添加外源性氯化钙及牛凝血酶, 则使富血小板血浆的使用存在伴发凝血系统紊乱的风险^[3], 其安全性受到质疑。

富血小板纤维蛋白作为取代富血小板血浆的第二代血小板浓缩物, 最早由Choukroun等^[4]于2001年提出。富血小板纤维蛋白的制备过程中无需添加任何凝血酶类的化学添加剂, 不存在安全风险。新鲜静脉血通过1次定速离心 (3 000 r·min⁻¹, 10 min), 逐渐形成纤维网络, 同时血小板被激

[收稿日期] 2018-07-07; **[修回日期]** 2018-11-29

[基金项目] 浙江省医药卫生科技计划 (2018KY059)

[作者简介] 王瑜, 学士, Email: wyisoohyun@163.com

[通信作者] 顾新华, 主任医师, 博士, Email: guxh@zju.edu.cn

活,脱颗粒释放出大量生长因子。这些生长因子能够嵌入纤维网络中,与之形成特定的化学结合,而后在组织内实现缓慢释放,促进组织愈合,延长作用时间^[5-7]。

浓缩生长因子与富血小板纤维蛋白一样,由静脉全血分离得到,制备过程中无需添加任何化学制剂,但离心过程有所不同。浓缩生长因子采用2 400~2 700 r·min⁻¹的变速离心技术,增加了血小板间的碰撞率,从而能够获得更高浓度、种类更丰富的生长因子。

相关学者^[8-9]的比较研究显示,浓缩生长因子中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的含量达富血小板纤维蛋白的1.5倍;同时,浓缩生长因子也因此获得了更大、更致密的纤维蛋白凝块,使其具备了更高的抗张强度和黏附性。

2 浓缩生长因子的制备方法

浓缩生长因子的制备一般于术前即刻进行。采集适量的患者静脉全血,注入未添加抗凝剂的10 mL无菌Vacuette试管中,注满后勿摇动,立即放入Medifuge离心机,配平,设定浓缩生长因子离心程序:加速30 s,转速2 700 r·min⁻¹离心2 min,2 400 r·min⁻¹离心4 min,2 700 r·min⁻¹离心4 min,3 000 r·min⁻¹离心3 min,减速36 s至停止^[10]。整个过程大致持续14 min。离心结束后,试管内可分为4层,由下至上分别为红细胞层、生长因子与干细胞层、血沉棕黄色层(buffer coat layer)、血清层^[11]。除血清层外,其余各层均呈相互连接的凝胶状。所谓的浓缩生长因子即指生长因子与干细胞层,使用时用无菌剪刀剪断分离,可被暂时储存于稀释的抗菌溶液(Lincocin 600 mg)中。

浓缩生长因子的使用形式多样,可直接使用,也可根据需要将浓缩生长因子切割成适当直径的颗粒,单独或与其他生物材料混合使用。此外,亦可利用特制的手术压制器,将其压制成浓缩生长因子膜来使用。

研究^[9]表明,除浓缩生长因子层外,红细胞层同样富含转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- β 1及VEGF,提示临床上可将浓缩生长因子与红细胞层混合应用,以实现其作用的最大化。

3 浓缩生长因子的主要成分及作用

浓缩生长因子主要可分为2部分,即由粗细不等的纤维蛋白原分子构成的三维立体网状支架与“镶嵌”其中的各类细胞及生长因子。

纤维蛋白立体网架孔隙大、弹性好,一方面可作为各类细胞及生长因子的“储藏室”,使其在组织中随着胶原降解而缓慢释放,延长作用时间^[12];另一方面又能支持由生长因子诱导生成的新生组织,作为骨细胞、成纤维细胞、内皮细胞等的生长支架,引导新骨的沉积和向内部生长。

浓缩生长因子中所含的生长因子主要包括以下几类:血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、TGF- β 、胰岛素样生长因子(insulin like growth factor, IGF)、VEGF、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)、骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)等。此外,Rodella等^[9]发现浓缩生长因子层中还存在着一定量的CD34⁺细胞,其与组织内新生血管形成、维护密切相关。

4 浓缩生长因子在口腔种植中的应用

近几年,种植技术以其不损伤邻牙、使用无异物感等多项优点,逐渐成为替代固定桥、活动义齿来进行牙列缺损、牙列缺失修复的首选。但对于长期缺牙导致的骨组织缺损、软组织不足,如何有效修复缺失、如何缩短治疗周期仍是口腔种植医生不断思考与探讨的问题。

4.1 浓缩生长因子与硬组织增量

目前,临床上针对种植位点骨缺损常用的骨增量方法包括引导性骨再生术(guided bone regeneration)、骨劈开术、骨挤压术、牵张成骨术等。此外,针对上颌后牙区垂直方向上的骨量不足,根据手术路径可分为从侧方开口的上颌窦外提升术与从牙槽嵴顶开口的上颌窦内提升。

引导性骨再生术作为种植中获得骨增量的常用手段,包括2个关键部分,即骨代材料(如Bio-oss)与膜屏障(如Bio-guid)。体外研究^[13]表明,适宜浓度的浓缩生长因子提取液可有效促进成骨细胞的增殖、分化以及成骨相关基因的表达。得益于浓缩生长因子多样的应用形式,许多

研究致力于实现浓缩生长因子与骨代材料、膜屏障材料的联合使用,甚至替代使用,以获得更佳的骨增量效果。

针对即刻种植种植体周围存在的骨缺损,柳宏志等^[14]在动物实验中,对浓缩生长因子联合骨代产品与单纯应用骨代产品的修复效果进行比较,发现浓缩生长因子联合骨代产品组的新骨形成时间更早,可有效缩短种植体形成骨结合的时间。而通过临床实践发现,在即刻种植中使用浓缩生长因子联合骨代产品修复骨缺损6个月后,牙槽骨骨量较术前明显增加,种植体周改良龈沟出血指数、探诊深度与正常邻牙无显著差异^[15],与单独运用骨代产品的病例相比,浓缩生长因子组牙龈退缩程度明显更小^[16]。此外,单独使用浓缩生长因子(未联合骨代材料)修复该类型缺损的修复效果有限^[8,17-18],因此并不提倡浓缩生长因子的单独使用。

在关于浓缩生长因子膜的研究中,Isobe等^[12]对浓缩生长因子膜与无血小板血浆纤维膜进行比较,发现前者在张力、纤维蛋白厚度、交联密度方面均优于后者,且降解速度更慢。李娜等^[19]则对浓缩生长因子膜与海奥口腔修复膜在引导性骨再生术中的作用效果进行比较,发现浓缩生长因子膜组植骨厚度与修复后骨厚度明显高于对照组。

此外,也有不少学者致力于浓缩生长因子在上颌窦提升中的应用。Wang等^[20]对比格犬行上颌窦提升术,发现术后6个月Bio-oss联合浓缩生长因子组在成骨比例、新生骨组织微硬度方面均显著优于Bio-oss组,且残留移植体更少。Sohn等^[21]单独使用浓缩生长因子作为移植材料开展上颌窦外提升术,发现经过5个月的愈合期,上颌窦内新骨形成,骨密度良好,活体组织检查未见明显炎症反应,骨形成活跃;上部修复后10个月,成功率达98.2%。Kim等^[22]及Park等^[23]的研究获得类似结论。

Pirpir等^[24]将浓缩生长因子膜衬于种植窝内,而后行种植体的植入,实验组植入1周以及植入4周后的种植体稳定系数(implant stability quotient)均显著高于对照组;仅在对照组中观察到种植体植入初期种植体稳定系数生理性降低的现象,从而反映了浓缩生长因子在促进骨结合、维护种植体稳定性、缩短种植修复周期中的积极作用。

4.2 浓缩生长因子与软组织增量

种植体周围足够的软组织是保障种植最终美学效果的前提,同时不少于2 mm的角化龈保证了种植体周围最低的生物学宽度,有益于种植体周围的卫生维护,降低种植体周围炎的发生率,也可以避免软组织对种植体及上部结构的过度牵拉,延长种植修复体使用寿命。对于长期缺牙引起的软组织量不足,临床常见的增量方法包括诱导软组织增量术、结缔组织瓣转移术、结合使用膜类替代材料等。

已有研究^[25-26]证实,生长因子对牙龈成纤维细胞、牙周膜干细胞的增殖与分化具有促进作用。柳宏志等^[27]的研究显示,将浓缩生长因子膜覆盖于深及皮下筋膜层的软组织缺损处,可明显缩短软组织愈合时间,减少瘢痕形成,提高愈合效果。Bozkurt Doğan等^[28]对根向复位瓣术结合浓缩生长因子治疗上颌连续多牙牙龈退缩的效果进行随机临床试验,术后观察6个月,发现与单纯运用根向复位瓣相比,结合使用浓缩生长因子可使角化龈及牙龈厚度得到显著增加。此外,对于浓缩生长因子在软组织不足的缺牙区域的应用效果尚未见报道。

5 总结及展望

浓缩生长因子来源于自体,制备过程中无任何添加,无毒性,避免了使用过程中可能存在的免疫排斥反应,临床应用安全。得益于其所含的大量生长因子及独特的纤维网架结构,浓缩生长因子在促进组织愈合、骨组织生长成熟、减轻炎症反应方面作用显著。而且,浓缩生长因子运用形式多样,可剪切成小颗粒与骨代材料混合使用,除了可利用其黏性稳定移植材料,二者结合更优化了双方的性能;浓缩生长因子也可压制成膜,在促进组织修复的同时,起到膜屏障作用。

浓缩生长因子的应用前景十分广阔,但在推进其应用的同时,仍有一些问题尚待解决。首先,就目前临床研究的结果而言,患者的随访时间均较短,浓缩生长因子获得的远期效果仍有待观察。其次,研究^[29]表明过高的生长因子浓度可能抑制细胞的增殖、分化,而且在许多文献中虽然得出了浓缩生长因子可促进组织修复的结论,但对其使用的浓度、与骨代材料的混合比例未进行明确阐述,不利于浓缩生长因子在临床中推广。

使用或在临床使用中发挥最佳效果,因此对浓缩生长因子的应用浓度及比例进行探究是必要的。此外,已有研究致力于浓缩生长因子的单独使用,但发现并非任何类型的组织缺损均适用,因此明确其适应证或如何拓宽其适应证仍有待进一步研究。体外研究^[30-31]表明,浓缩生长因子亦可促进施旺细胞的增殖、分化与迁移,这无疑为种植手术中可能导致的神经损伤的修复提供了新思路。

6 参考文献

- [1] Assoian RK, Grotendorst GR, Miller DM, et al. Cellular transformation by coordinated action of three peptide growth factors from human platelets[J]. *Nature*, 1984, 309(5971): 804-806.
- [2] Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery[J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 1997, 55(11): 1294-1299.
- [3] Carano RA, Filvaroff EH. Angiogenesis and bone repair[J]. *Drug Discov Today*, 2003, 8(21): 980-989.
- [4] Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, et al. An opportunity in perio-implantology: the PRF[J]. *Implantodontie*, 2001, 42: 55-62.
- [5] Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution [J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2006, 101(3): e37-e44.
- [6] Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2006, 101(3): e45-e50.
- [7] Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2006, 101(3): e51-e55.
- [8] Park HC, Kim SG, Oh JS, et al. Early bone formation at a femur defect using CGF and PRF grafts in adult dogs: a comparative study[J]. *Implant Dent*, 2016, 25(3): 387-393.
- [9] Rodella LF, Favero G, Boninsegna R, et al. Growth factors, CD34 positive cells, and fibrin network analysis in concentrated growth factors fraction[J]. *Microsc Res Tech*, 2011, 74(8): 772-777.
- [10] Chen YH, Cai ZY, Zheng DG, et al. Inlay osteotome sinus floor elevation with concentrated growth factor application and simultaneous short implant placement in severely atrophic maxilla[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 27348.
- [11] Bozkurt Doğan Ş, Öngöz Dede F, Ballı U, et al. Concentrated growth factor in the treatment of adjacent multiple gingival recessions: a split-mouth randomized clinical trial[J]. *J Clin Periodontol*, 2015, 42(9): 868-875.
- [12] Isobe K, Watanebe T, Kawabata H, et al. Mechanical and degradation properties of advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), concentrated growth factors (CGF), and platelet-poor plasma-derived fibrin (PPTF)[J]. *Int J Implant Dent*, 2017, 3(1): 17.
- [13] 刘琳,董凯,柳忠豪.浓缩生长因子提取液对MC3T3-E1细胞影响的实验研究[J].*实用口腔医学杂志*, 2015, 31(3): 309-312.
Liu L, Dong K, Liu ZH. The effect of concentrate growth factor extract on MC3T3-E1 cells[J]. *J Pract Stomatol*, 2015, 31(3): 309-312.
- [14] 柳宏志,李超,王天祥,等. CGF联合骨代用品在即刻种植中修复种植体周围骨缺损的实验研究[J].*口腔颌面外科杂志*, 2012, 22(4): 277-282.
Liu HZ, Li C, Wang TX, et al. *In vivo* bone response to CGF complex with bone substitute material at the bone/dental implant interface[J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 2012, 22(4): 277-282.
- [15] 孟海锋.前牙即刻种植同期CGF辅助的引导骨再生解决骨缺损临床效果分析[J].*浙江创伤外科*, 2015, 20(4): 724-726.
Meng HF. Clinical analysis of immediate implant assisted simultaneous CGF guided bone regeneration in the treatment of bone defects[J]. *Zhejiang J Traumat Surg*, 2015, 20(4): 724-726.
- [16] 杨立明,陈淑萍,李恩洪.浓缩生长因子(CGF)在即刻种植修复应用中的牙龈美学研究[J].*中国美容医学*, 2015, 24(1): 63-65.
Yang LM, Chen SP, Li EH. The clinical research on the gingival aesthetics of concentrate growth factors

- on immediate implant and immediate prosthesis[J]. Chin J Aesthet Med, 2015, 24(1): 63-65.
- [17] Durmuşlar MC, Ballı U, Dede FÖ, et al. Histological evaluation of the effect of concentrated growth factor on bone healing[J]. J Craniofac Surg, 2016, 27(6): 1494-1497.
- [18] Yang LM, Liu ZZ, Chen SP, et al. The study of the effect of concentrated growth factors (CGF) on the new bone regeneration of immediate implant[J]. Adv Mat Res, 2015, 1088: 500-502.
- [19] 李娜, 刘敏. 不同口腔修复膜材料在牙种植中引导骨再生的临床效果观察[J]. 中外医学研究, 2016, 14(21): 15-17.
- Li N, Liu M. Clinical efficacy observation of different dental membrane materials in dental implant guided bone regeneration[J]. Chin Foreign Med Res, 2016, 14(21): 15-17.
- [20] Wang F, Li Q, Wang ZL. A comparative study of the effect of Bio-Oss® in combination with concentrated growth factors or bone marrow-derived mesenchymal stem cells in canine sinus grafting[J]. J Oral Pathol Med, 2017, 46(7): 528-536.
- [21] Sohn DS, Heo JU, Kwak DH, et al. Bone regeneration in the maxillary sinus using an autologous fibrin-rich block with concentrated growth factors alone[J]. Implant Dent, 2011, 20(5): 389-395.
- [22] Kim JM, Lee JH, Park IS. New bone formation using fibrin rich block with concentrated growth factors in maxillary sinus augmentation[J]. J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg, 2011, 37(4): 278-286.
- [23] Park IS, Sohn DS. Maxillary sinus elevation using concentrated growth factor (CGF)[J]. Int J Oral Maxillofac Surg, 2011, 40 (10): 1133.
- [24] Pirpir C, Yilmaz O, Candirli C, et al. Evaluation of effectiveness of concentrated growth factor on osseointegration[J]. Int J Implant Dent, 2017, 3(1): 7.
- [25] Park SI, Bae HS, Hong KS. The biological effects of concentrated growth factors on the differentiation and proliferation of human gingival fibroblasts[J]. J Dent Hyg Sci, 2012, 12(6): 689-695.
- [26] Yu BH, Wang ZL. Effect of concentrated growth factors on beagle periodontal ligament stem cells *in vitro*[J]. Mol Med Rep, 2014, 9(1): 235-242.
- [27] 柳宏志, 邹高峰, 王天祥, 等. 浓缩生长因子促进犬软组织损伤修复的实验研究[J]. 口腔颌面外科杂志, 2013, 23(1): 28-31.
- Liu HZ, Zou GF, Wang TX, et al. Concentrate growth factors in the promotion of healing of soft tissue wounds[J]. J Oral Maxillofac Surg, 2013, 23(1): 28-31.
- [28] Bozkurt Doğan Ş, Öngöz Dede F, Ballı U, et al. Concentrated growth factor in the treatment of adjacent multiple gingival recessions: a split-mouth randomized clinical trial[J]. J Clin Periodontol, 2015, 42 (9): 868-875.
- [29] Uggeri J, Belletti S, Guizzardi S, et al. Dose-dependent effects of platelet gel releasate on activities of human osteoblasts[J]. J Periodontol, 2007, 78(10): 1985-1991.
- [30] Qin J, Wang L, Zheng L, et al. Concentrated growth factor promotes Schwann cell migration partly through the integrin β 1-mediated activation of the focal adhesion kinase pathway[J]. Int J Mol Med, 2016, 37(5): 1363-1370.
- [31] Qin J, Wang L, Sun Y, et al. Concentrated growth factor increases Schwann cell proliferation and neurotrophic factor secretion and promotes functional nerve recovery *in vivo*[J]. Int J Mol Med, 2016, 37(2): 493-500.

(本文编辑 胡兴戎)