

论著·临床研究

骨折后手术患者异位骨化风险的 nomogram 临床评分系统的建立

王晔恺¹, 陈 位², 杨颖辉³, 吴静泽³, 王和平³, 姚燕珍¹, 鲍舟君¹

1. 浙江省舟山医院检验中心, 舟山 316021; 2. 浙江省舟山医院骨科, 舟山 316021; 3. 浙江省舟山医院放射诊断中心, 舟山 316021

[摘要] **目的**·建立预测骨折后接受手术治疗患者发生异位骨化 (heterotopic ossification, HO) 风险的 nomogram 临床评分系统。**方法**·选取2018年8月至2020年10月在浙江省舟山医院骨科或脑外科住院的骨折并接受手术的患者共124例, 其中男性81例, 女性43例, 年龄25~91岁 [平均年龄 (56.48±15.45) 岁]。收集患者入院临床资料, 包括性别、年龄、是否合并脑外伤、麻醉方式、手术持续时间、术中出血量等。采集患者骨折后1 d、7 d、15 d共3个时间点的外周血, ELISA法检测血清骨形成蛋白2 (bone morphogenetic protein 2, BMP-2)、BMP-4、BMP-5、BMP-7及细胞因子白介素-4 (interleukin 4, IL-4)、IL-6、IL-10、 γ 干扰素 (interferon γ , IFN- γ)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 的浓度。按随访结果将患者分为可见HO组和未见HO组, 以 $\alpha=0.15$ 从临床和实验室指征中挑选2组间差异具有统计学意义的变量纳入单变量Cox回归模型; 再以 $\alpha=0.05$ 从单变量Cox回归模型中挑选变量纳入多变量Cox回归模型来筛选患者发生异位骨化的独立风险因子, 并计算风险率 (HR); 最后通过R语言中的rms包进行nomogram可视化输出。**结果**·随访共发现13例异位骨化患者, 随访发现时间中位数为71 (38, 292) d。通过组间比较、单变量Cox回归分析、多变量Cox回归分析得到合并脑外伤 (HR=2.932, $P=0.038$), 手术持续时间 (HR=1.005, $P=0.007$), 术中出血量 (HR=1.004, $P=0.022$), 15 d时的BMP-2 (HR=1.009, $P=0.044$)、BMP-4 (HR=1.004, $P=0.011$)、TGF- β (HR=1.011, $P=0.046$), 以及7 d时的BMP-7 (HR=1.004, $P=0.008$) 共7个对异位骨化结局有显著影响的独立因子并输出得到骨折后90 d、180 d、360 d患者异位骨化发生概率预测的 nomogram 评分系统。**结论**·预测骨折后手术患者异位骨化风险的 nomogram 评分系统的7个评分指标分别为是否合并脑外伤, 手术持续时间, 术中出血量, 骨折后15 d外周血BMP-2、BMP-4、TGF- β 水平, 以及骨折后7 d外周血BMP-7水平。

[关键词] 异位骨化; 骨折; 列线图; 脑外伤; 骨成型蛋白

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2022.01.001 **[中图分类号]** R683 **[文献标志码]** A

Establishment of a nomogram clinical scoring system for the risk of heterotopic ossification in patients undergoing surgery after fracture

WANG Yekai¹, CHEN Wei², YANG Yinghui³, WU Jingze³, WANG Heping³, YAO Yanzhen¹, BAO Zhoujun¹

1. Clinical Lab, Zhoushan Hospital, Zhejiang Province, Zhoushan 316021, China; 2. Department of Orthopaedics, Zhoushan Hospital, Zhejiang Province, Zhoushan 316021, China; 3. Radiology Diagnostic Center, Zhoushan Hospital, Zhejiang Province, Zhoushan 316021, China

[Abstract] **Objective**·To establish a nomogram scoring system to predict morbidity of heterotopic ossification (HO) in the patients undergoing surgery after fracture. **Methods**·From August 2018 to October 2020, 124 patients with fractures from department of orthopaedics or brain surgery, including 81 males and 43 females with an average age of (56.48±15.45) years old (ranging from 25–91 years old), were enrolled in the study. Clinical features including gender, age, with brain trauma or not, anesthetic mode, operation duration time, and blood loss during operation were collected. Peripheral blood samples were collected at three time points, i.e. 1 d, 7 d and 15 d after fracture, and the sera levels of bone morphogenetic protein 2 (BMP-2), BMP-4, BMP-5, BMP-7, interleukin 4 (IL-4), IL-6, IL-10, interferon γ (IFN- γ), and transforming growth factor- β (TGF- β) were detected by ELISA. All the

[基金项目] 浙江省卫生健康委员会医药科技计划面上项目 (2020KY340)。

[作者简介] 王晔恺 (1982—), 男, 副主任技师, 学士; 电子信箱: wangyekai@163.com。

[通信作者] 王晔恺, 电子信箱: wangyekai@163.com。

[Funding Information] General Project of Medical Science and Technology Plan of Health Commission of Zhejiang Province (2020KY340).

[Corresponding Author] WANG Yekai, E-mail: wangyekai@163.com.

[网络首发]



patients were divided into HO group and non-HO group according to follow-up outcomes. The variables with statistically significant differences ($\alpha=0.15$) between the two groups selected from clinical and laboratory indications were included in the univariate Cox regression model. Then the variables selected from univariate Cox regression model ($\alpha=0.05$) were incorporated into multivariate Cox regression model to screen the independent risk factors of HO and calculate the risk ratios (HR). Finally, the nomogram scoring system was output through rms package in R language. **Results** The follow-up observation found 13 HO cases after a median time of 71 (38, 292) d. Seven independent risk factors for HO, *i.e.* brain trauma (HR=2.932, $P=0.038$), operation duration time (HR=1.005, $P=0.007$), blood loss during operation (HR=1.004, $P=0.022$), BMP-2 (15d) (HR=1.009, $P=0.044$), BMP-4 (15 d) (HR=1.004, $P=0.011$), TGF- β (15 d) (HR=1.011, $P=0.046$), and BMP-7 (7 d) (HR=1.004, $P=0.008$), were selected by comparison between groups, univariate COX regression and multivariate COX regression sequentially. The nomogram to predict morbidity of HO after 90 d, 180 d, and 360 d was generated. **Conclusion** The seven scoring indexes of nomogram scoring system for predicting the risk of HO in the patients undergoing surgery after fracture are with brain trauma or not, operation duration time, blood loss during operation, levels of BMP-2, BMP-4 and TGF- β in peripheral blood 15 d after fracture and BMP-7 7 d after fracture.

[Key words] heterotopic ossification (HO); fracture; nomogram; brain trauma; bone morphogenetic protein (BMP)

异位骨化(heterotopic ossification, HO)指在正常情况下不具有钙化性质的组织中的骨形成,主要特点是在软骨组织或肌组织中钙化骨迅速形成,引起关节周围肿胀、疼痛、关节活动障碍等症状,甚至出现周围神经嵌压和压迫性溃疡,常分为进行性和创伤性。创伤性异位骨化一般认为是在骨折、关节置换手术等较大的创伤后,软组织损伤出血,在炎症反应和细胞因子的综合作用下的结果。血清骨形成蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)能通过 SMAD1/5/8 信号通路诱导异位骨化生成^[1];不同亚型的 BMP 在诱导成骨活性,以及各型 BMP 缺失后的表现各不相同。目前研究较多的是与韧带骨化及成骨作用最为紧密的 BMP-2、BMP-4、BMP-7。除 BMP 外,炎症因子也能参与骨化的作用,如白介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等在体外也能促进黄韧带细胞的纤维化和骨化^[2],转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)中和抗体可减少外伤性小鼠的异位骨形成^[3]。目前创伤性异位骨化通常是通过早期症状和影像学随访才能发现^[4],而已经有较多文献报道 BMP 和一些炎症因子是创伤性异位骨化的风险因素,但是目前仍缺乏一个综合性的可应用于临床的早期风险预测评分系统。为实现对外伤患者的创伤性异位骨化的不同时间节点的发病概率预测,本研究通过收集外伤患者的多个时间点血清,检测 BMP 及其他若干相关因子,同时通过影像学检查随访患者结局,再对各细胞因子与患者结局行 Cox 回归分析,并通过做列线图(nomogram)将复杂的 Cox 回归方程转变为简单且可视化的图形评分系统,使预测模型的结果更容易被临床所接受和使用。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取2018年8月—2020年10月于浙江省舟山医院骨科或脑外科住院的骨折患者。纳入标准:①影像学下可见明显骨折线,包括单发和多发性骨折。②受伤后即刻入院就诊。③均进行了手术,包括复位术、内固定和外固定术。④知情同意,且自愿参加本次研究。排除标准:①儿童和青少年。②存在严重的慢性疾病如肿瘤等。③难以完成随访者。④术中进行了关节置换的患者。共纳入患者124例,其中男性81例,女性43例,年龄25~91岁,平均年龄(56.48 \pm 15.45)岁,主要骨折部位包括股骨(29例)、胫腓骨(17例)、肱骨(15例),其余为髌骨、肩胛骨、尺骨、桡骨、颅骨等。分别于患者骨折入院后1 d、7 d、15 d,收集3个时间点的血清,-20℃冻存。样本采集已经过浙江省舟山医院伦理委员会审核,所有入组患者均签署知情同意书,伦理审批号2019伦审第(068)号。

1.2 试剂和仪器

BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-7及细胞因子 IL-4、IL-6、IL-10、 γ 干扰素(interferon γ , IFN- γ)、TGF- β 的 ELISA 检测试剂盒均购自上海纪宁生物科技有限公司。酶标仪为 Thermo MK3 型,影像学检查 CT 机为东芝 Aquilion 64 排螺旋 CT 仪,X 射线机为岛津数字化摄影 X 线机。

1.3 临床治疗

通过影像学检查等方法对骨折本身进行评估,并判断软组织损伤程度,根据相应的指征进行复位、内

固定或外固定手术治疗等。大多数患者使用曲马多给予镇痛,极少数开放性骨折患者使用头孢克肟等消炎,用布洛芬和曲马多联合镇痛。

1.4 临床指征收集和实验室指标检测

由临床医师采集患者临床资料,包括性别、年龄、是否合并脑外伤等,并从手术记录单上采集麻醉方式、手术持续时间、术中出血量等。其中麻醉方式包括全身麻醉、静吸复合麻醉、局部浸润麻醉、蛛网膜下腔阻滞、臂丛神经阻滞、硬膜外腔阻滞,将蛛网膜下腔阻滞和硬膜外腔阻滞定义为可能影响脊髓的麻醉方式。BMP-2、BMP-4、BMP-5、BMP-7及细胞因子 IL-4、IL-6、IL-10、IFN- γ 、TGF- β 的浓度采用 ELISA 试剂盒检测。通过对倍比稀释的标准品的吸光度值建立线性回归换算得到各样本的检测物浓度。

1.5 影像学随访

对骨折后的患者进行影像学随访(3个月内1~3周一次,3个月后3~6个月一次),方式为X片和/或CT,检查部位包括原发性骨折部位及患者自述不适的其他部位,对患者异位骨化的诊断由放射诊断中心2名副主任医师共同确认。根据是否发生异位骨化,将研究对象分为可见HO组和未见HO组。

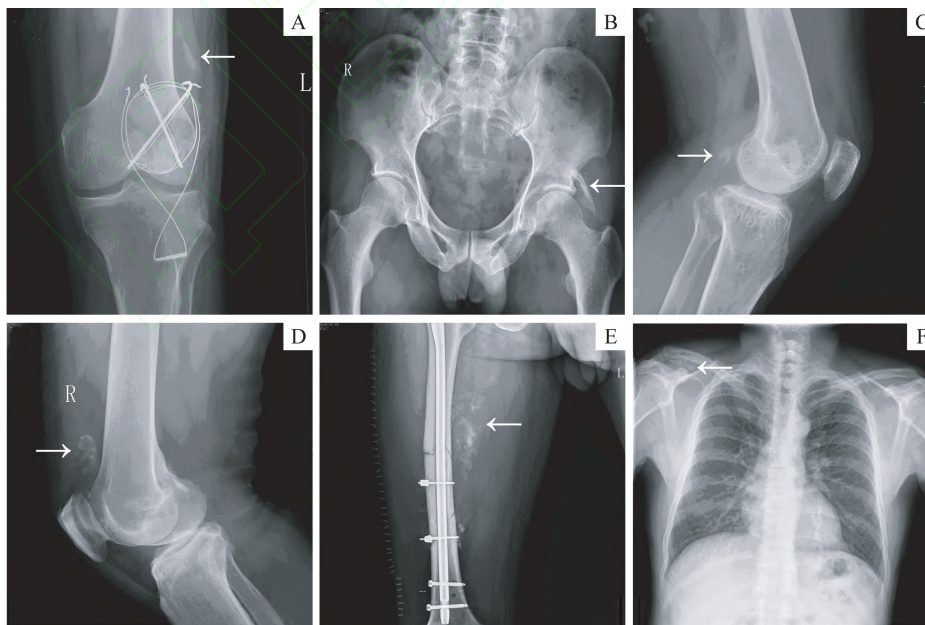
1.6 统计学分析

采用SPSS 13.0统计学软件进行数据分析。定量资料先通过K-S检验判断正态性,正态资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示并采用独立 t 检验,偏态资料用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示并采用Mann-Whitney检验。定性资料采用 χ^2 检验($1\leq T<5$ 采用校正 χ^2 检验, $T<1$ 或 $n<40$ 采用Fisher精确概率法)。以 $\alpha=0.15$ 从组间比较中挑选变量纳入单变量COX回归模型,再以 $\alpha=0.05$ 从单变量COX回归模型中挑选变量纳入多变量COX回归模型以筛选患者发生HO的独立风险因子,并计算风险率(HR)及95%CI。最后通过R语言中的rms包进行nomogram可视化输出。用Bootstrap内部抽样验证计算C指数。 $P<0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

124例随访患者随访13~660 d,中位时间为139(65, 347) d,共发现13例发生异位骨化。随访发现异位骨化的时间为71(38, 292) d,其中髋关节附近8例,膝关节附近3例,踝关节附近1例,锁骨附近1例(图1)。



Note: A. Male, 63 years old, strip high density shadow in soft tissue area of the lower part of the left thigh. B. Male, 44 years old, high density strip shadow near the left acetabulum. C. Male, 66 years old, massive high-density in the popliteal fossa of left knee joint. D. Male, 61 years old, flocculent high-density above the patella in the right lower thigh. E. Male, 48 years old, flocculent high-density on the inner side of the middle and upper right thigh. F. Male, 67 years old, high density strip shadow near the right clavicle.

图1 部分患者异位骨化的影像学表现(X光片)

Fig 1 X-rays of heterotopic ossification in some patients

2.2 可见与未见HO组的一般情况和实验室指标比较

由表1可见, 一般情况中, 可见HO组中的合并脑外伤(包括头皮损伤、颅骨损伤与脑损伤)比例(46.15%)高于未见HO组(12.61%), 差异具有统计学意义($P<0.01$)。BMP中, 可见HO组的BMP-2、BMP-4在1 d、7 d、15 d各时间点的浓度均高于未见

HO组, 差异具有统计学意义(均 $P<0.01$); 可见HO组的BMP-5和BMP-7仅在入院后1 d的浓度高于未见HO组, 差异具有统计学意义(均 $P<0.05$)。细胞因子中, 可见HO组的IL-6和TGF- β 在1 d、7 d、15 d各时间点的浓度均高于未见HO组, 差异具有统计学意义(均 $P<0.01$)。

表1 可见HO组和未见HO组患者的临床特征和实验室指标比较

Tab 1 Comparison of clinical and laboratory indicators between HO group and non-HO group

Index	HO group($n=13$)	Non-HO group($n=111$)	$\chi^2/t/z$ value	P value
Male/ $n(\%)$	10 (76.92)	71 (63.96)	0.863	0.353
Age/year	63.38 \pm 15.08	55.67 \pm 15.37	1.715	0.089
Brain injury/ $n(\%)$	6 (46.15)	14 (12.61)	7.357	0.007
Spinal cord injury/ $n(\%)$	1 (7.69)	3 (2.70)	—	0.362
Undergoing the anesthesia modes ^① / $n(\%)$	2 (15.38)	19 (8.10)	0.000	1.000
Operation duration time/min	202.00 (110.50, 332.50)	130.50 (79.00, 203.50)	-1.903	0.057
Blood loss during operation/mL	150.00 (17.50, 389.50)	50.00 (20.00, 100.00)	-1.745	0.081
BMP-2(1 d)/(ng·L ⁻¹)	73.38 \pm 20.88	43.41 \pm 16.59	5.991	0.000
BMP-2(7 d)/(ng·L ⁻¹)	103.61 \pm 26.92	80.45 \pm 29.46	2.703	0.008
BMP-2(15 d)/(ng·L ⁻¹)	197.46 \pm 62.47	81.12 \pm 12.33	17.385	0.000
BMP-4(1 d)/(ng·L ⁻¹)	260.15 \pm 95.12	120.47 \pm 51.88	5.205	0.000
BMP-4(7 d)/(ng·L ⁻¹)	352.53 \pm 125.83	235.96 \pm 71.89	3.278	0.006
BMP-4(15 d)/(ng·L ⁻¹)	527.07 \pm 141.15	261.50 \pm 97.32	6.602	0.000
BMP-5(1 d)/(ng·L ⁻¹)	408.00 (309.00, 702.00)	679.00 (590.00, 781.00)	-2.056	0.040
BMP-5(7 d)/(ng·L ⁻¹)	629.43 \pm 234.93	524.45 \pm 254.80	1.417	0.159
BMP-5(15 d)/(ng·L ⁻¹)	615.61 \pm 260.32	503.643 \pm 215.77	1.492	0.158
BMP-7(1 d)/(ng·L ⁻¹)	352.92 \pm 128.95	260.50 \pm 154.56	2.071	0.040
BMP-7(7 d)/(ng·L ⁻¹)	492.23 \pm 206.31	367.28 \pm 153.97	2.116	0.053
BMP-7(15 d)/(ng·L ⁻¹)	514.46 \pm 172.83	418.09 \pm 190.83	1.734	0.085
IL-6(1 d)/(ng·L ⁻¹)	82.07 \pm 30.60	39.31 \pm 8.64	11.548	0.000
IL-6(7 d)/(ng·L ⁻¹)	97.07 \pm 26.05	51.79 \pm 14.97	9.419	0.000
IL-6(15 d)/(ng·L ⁻¹)	77.00 \pm 12.70	54.72 \pm 15.11	5.100	0.000
IFN- γ (1 d)/(ng·L ⁻¹)	658.00 (241.00, 776.00)	827.00 (335.00, 994.00)	-1.485	0.138
IFN- γ (7 d)/(ng·L ⁻¹)	513.23 \pm 285.90	398.43 \pm 270.57	1.439	0.153
IFN- γ (15 d)/(ng·L ⁻¹)	420.46 \pm 235.85	344.40 \pm 178.52	1.126	0.280
IL-4(1 d)/(ng·L ⁻¹)	817.07 \pm 238.78	935.24 \pm 339.04	-1.220	0.225
IL-4(7 d)/(ng·L ⁻¹)	835.38 \pm 333.24	988.07 \pm 320.89	-1.617	0.108
IL-4(15 d)/(ng·L ⁻¹)	803.00 \pm 208.30	839.97 \pm 271.67	-0.473	0.637
IL-10(1 d)/(ng·L ⁻¹)	466.07 \pm 255.66	421.84 \pm 237.69	0.594	0.561
IL-10(7 d)/(ng·L ⁻¹)	360.38 \pm 142.80	411.09 \pm 137.35	-1.255	0.212
IL-10(15 d)/(ng·L ⁻¹)	412.23 \pm 225.11	431.56 \pm 143.01	-0.431	0.667
TGF- β (1 d)/(μ g·L ⁻¹)	4.20 \pm 1.53	2.97 \pm 0.96	4.063	0.000
TGF- β (7 d)/(μ g·L ⁻¹)	3.91 \pm 1.36	3.06 \pm 1.05	2.662	0.009
TGF- β (15 d)/(μ g·L ⁻¹)	4.13 \pm 1.10	2.84 \pm 0.90	4.726	0.000

Note: ^①including subarachnoid block and epidural block, which may affect spinal cord.

2.3 异位骨化结局的Cox回归分析

以 $\alpha=0.15$ 的标准从表1中选择年龄、合并脑外伤、手术持续时间、术中出血量、BMP-2(1 d)、BMP-2(7 d)、BMP-2(15 d)、BMP-4(1 d)、BMP-4(7 d)、BMP-4(15 d)、BMP-5(1 d)、BMP-7(1 d)、BMP-7(7 d)、BMP-7(15 d)、IL-6(1 d)、IL-6(7 d)、IL-6(15 d)、IFN- γ (1 d)、IL-4(7 d)、TGF- β (1 d)、TGF- β (7 d)、TGF- β (15 d)共22个变量纳入单因素Cox回归模型进行分析,得到合并脑外伤、手术持续时间、术中出血量、BMP-2(1 d)、BMP-2(7 d)、

BMP-2(15 d)、BMP-4(1 d)、BMP-4(7 d)、BMP-4(15 d)、BMP-7(1 d)、BMP-7(7 d)、IL-6(1 d)、IL-6(7 d)、IL-6(15 d)、IFN- γ (1 d)、TGF- β (1 d)、TGF- β (7 d)、TGF- β (15 d)共18个指标具有统计学意义。将这18个指标纳入多因素Cox回归模型进行分析,最终得到合并脑外伤($HR=2.932$)、手术持续时间($HR=1.005$)、术中出血量($HR=1.004$)、BMP-2(15 d)($HR=1.009$)、BMP-4(15 d)($HR=1.004$)、BMP-7(7 d)($HR=1.004$)、TGF- β (15 d)($HR=1.011$)共7个对HO结局有显著影响的因子($R^2=0.852$)。

表2 骨折后手术患者异位骨化结局的单因素和多因素Cox回归分析

Tab 2 Univariate and multivariate Cox regression analysis of heterotopic ossification outcome in the patients with fracture undergoing operation

Variant	Univariate				Multivariate			
	β	P	HR	95%CI	β	P	HR	95%CI
Age	0.036	0.056	1.037	0.923–1.075	–	–	–	–
Brain injury	1.622	0.004	5.063	1.695–15.129	1.076	0.038	2.932	1.063–8.083
Operation duration time	0.001	0.017	1.001	1.000–1.002	0.005	0.007	1.005	1.001–1.008
Blood loss during operation	0.003	0.027	1.003	1.000–1.006	0.003	0.022	1.004	1.001–1.007
BMP-2(1 d)	0.058	0.000	1.059	1.036–1.084	0.059	0.168	1.060	0.976–1.152
BMP-2(7 d)	0.018	0.003	1.018	1.006–1.031	0.019	0.416	1.019	0.974–1.067
BMP-2(15 d)	0.041	0.000	1.042	1.026–1.058	0.009	0.044	1.009	1.001–1.021
BMP-4(1 d)	0.020	0.000	1.020	1.012–1.027	–0.009	0.124	0.991	0.979–1.003
BMP-4(7 d)	0.013	0.000	1.013	1.007–1.020	0.002	0.645	1.002	0.995–1.008
BMP-4(15 d)	0.009	0.000	1.009	1.006–1.012	0.004	0.011	1.004	1.001–1.008
BMP-5(1 d)	0.001	0.183	1.001	0.999–1.003	–	–	–	–
BMP-7(1 d)	0.003	0.032	1.003	1.000–1.005	0.006	0.128	1.006	0.998–1.014
BMP-7(7 d)	0.003	0.017	1.003	1.001–1.006	0.004	0.008	1.004	1.000–1.007
BMP-7(15 d)	0.002	0.205	1.002	0.999–1.005	–	–	–	–
IL-6(1 d)	0.052	0.000	1.054	1.037–1.071	0.003	0.764	1.003	0.983–1.024
IL-6(7 d)	0.054	0.000	1.055	1.038–1.074	0.039	0.082	1.039	0.995–1.086
IL-6(15 d)	0.171	0.000	1.187	1.108–1.271	0.020	0.282	1.020	0.983–1.059
IFN- γ (1 d)	0.002	0.044	1.002	1.000–1.004	0.001	0.471	1.001	0.998–1.005
IL-4(7 d)	–0.002	0.063	0.998	0.997–1.000	–	–	–	–
TGF- β (1 d)	0.117	0.000	1.116	1.107–1.131	0.003	0.122	1.003	0.992–1.015
TGF- β (7 d)	0.103	0.042	1.104	1.067–1.148	0.002	0.670	1.001	0.999–1.003
TGF- β (15 d)	0.126	0.000	1.136	1.123–1.152	0.008	0.046	1.011	1.008–1.014

2.4 异位骨化结局的nomogram模型输出

通过R程序中的rms包输出nomogram模型(图2),并设定90 d、180 d、360 d 3个预测时间节点,

预测骨折患者接受手术治疗后发生异位骨化的可能性,3个节点的C指数分别为0.916、0.923、0.904。

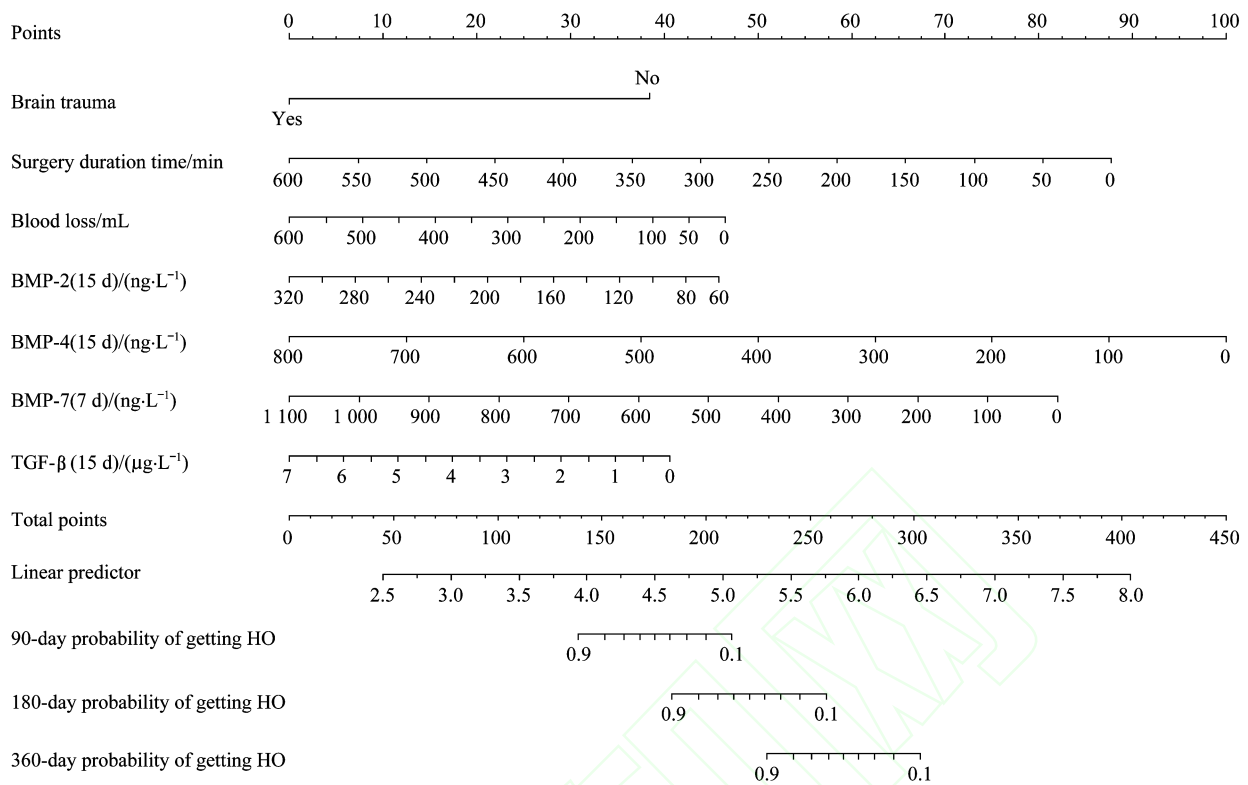


图2 骨折后手术患者骨折后90 d、180 d、360 d发生异位骨化概率的nomogram

Fig 2 Nomogram for predicting morbidity of HO 90 d, 180 d and 360 d after fracture

3 讨论

创伤性异位骨化是人体修复的一种特殊形式,但在髋关节置换这类创伤性较大的手术中,过度骨化对恢复期的关节活动度会产生不良影响^[5]。目前认为异位骨化存在较多影响因素,通常认为性别是异位骨化的影响因素之一^[6-7]。但本研究中性别却并非显著影响因素,可能由于本研究与文献中纳入的患者类别不同的原因:文献中均为髋关节置换患者^[6-7],而本研究中为各类骨折和脑外伤患者。手术麻醉方式是否为异位骨化的显著影响因素目前尚存在争议^[8],但随着对麻醉机制认识的加深,发现异位骨化可能并非只与硬膜外麻醉时的肌肉张力增加有关,还可能是在麻醉时对脊髓的潜在损伤引起了神经源性的异位骨化。神经源性的异位骨化主要由脑外伤及脊髓损伤引发,进而造成机体的液体环境、细胞因子等的变化,通过“细胞因子风暴”这类级联放大反应加大了异位骨化的发生率;而动物实验^[9]也表明TNF- α 和IL-1 β 等细胞因子在创伤性和遗传性异位骨化的部分时间节点存在差异。本研究中麻醉方式并非异位骨化的显著影响因素,可能是因为麻醉方式的影响还与麻醉医师

的穿刺熟练程度有关。此外,本研究还发现手术持续时间和出血量的增加是异位骨化的2项危险因子,与文献^[7]报道相符。而HAYASHI等^[10]认为除了手术持续时间以外,从创伤发生至手术的间隔时间的增加也会带来骨盆或股骨近端异位骨化风险的增加。这些证据都表明:神经和肌肉损伤程度对异位骨化也有一定影响^[11],因此在骨科的临床工作中,减少骨折至手术的时间及减少手术持续时间对早期异位骨化的预防具有重要意义。

内皮细胞间质转化及成骨分化被认为是发生异位骨化的关键过程。BMP/SMAD通路激活是间充质细胞或成骨前体细胞向成骨细胞分化的重要标志之一,抑制BMP/SMAD通路有助于抑制骨化作用,如应用BMP I型受体抑制剂可阻断成骨分化和SMAD磷酸化的激活^[12]。本研究表明相对于骨折初期,骨折后7~15 d的BMP浓度对后续异位骨化的形成具有更重要的参考价值;体外实验^[11]也表明一些抗炎药物在通过降低体内炎症反应抑制异位骨化形成的同时也能降低BMP-7的表达。炎症因子中以TGF- β 作用更明显,这可能是因为IL-6、IL-4等细胞因子半衰期较短,无法持久地发挥成骨作用,而TGF- β 和

BMP 均属于 TGF- β 超家族, 可通过依赖和非依赖 SMAD 通路发挥作用, 血清中的维持时间和效果明显强于其他细胞因子。通过对一些髋关节假体置换后形成的异位骨化组织的免疫组织化学结果分析也证实了这点: 早期异位骨化组织未成熟时 TGF- β 增长极快, 随着异位骨化组织的逐渐成熟, TGF- β 表达水平持续升高, 直至 2 年后随着异位骨化组织形成减慢才逐渐停止^[13]。对异位骨化的预防研究也主要集中在针对性抑制 BMP 和 TGF- β 的作用上, 如全身注射 TGF- β 中和抗体可减弱外伤性和 BMP 诱导的小鼠异位骨化模型以及骨化纤维发育不良进展小鼠模型中的异位骨形成^[3]; 地氯雷他定可通过抑制 BMP2/SMAD1/5/8 信号转导进而抑制血小板衍生生长因子受体 α (platelet derived growth factor receptor α , PDGFR α) 阳性细胞的成骨分化, 从而抑制异位骨化的生成^[1]。当然, 异位骨化结局是由破骨和成骨作用平衡协调的产物, 而破骨细胞特异性标志蛋白组织蛋白酶 K (cathepsin K, CTSK)、金属基质蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase 9, MMP9) 在异位骨化中也起到重要作用, 也能作为异位骨化的预测标志物; 但相关报道多集中在组织表达上, 关于它们在血

清中表达的报道并不多, 在后续的研究中我们会继续关注这类蛋白。

Nomogram 图是一种将回归结果进行可视化输出的方法, 它根据所有自变量回归系数的大小来制定评分标准, 对患者的各项指标进行分值累积就可计算得到一个总分, 再通过得分与结局发生概率之间的转换函数来计算每个患者的结局发生概率。临床上常用的 Logistic 模型只有结局变量而无时间变量, 如遇到对时间结局相关的预测要求则无法实现。WANG 等^[14] 通过 Cox 回归模型解决了上述问题, 预测得到了多个时间点的患者存活概率, 并用 nomogram 图进行了可视化输出。本研究建立的 nomogram 预测模型可初步应用于临床上对骨折患者的异位骨化风险评估。如果相应时间点的异位骨化发生概率升高, 则可进行提前干预, 通过物理和药物治疗等, 进一步降低患者异位骨化的发生风险。当然本研究也存在一定的局限性, 如我们的预实验发现不同品牌的 BMP 及细胞因子 ELISA 试剂盒检测结果存在数值上的偏差。如何对数值进行标化处理以使预测结果更加符合真实的异位骨化发生概率, 是以后着重需要解决的问题。

参 考 文 献

- [1] KUSANO T, NAKATANI M, ISHIGURO N, et al. Desloratadine inhibits heterotopic ossification by suppression of BMP2-Smad1/5/8 signaling[J]. J Orthop Res, 2021, 39(6): 1297-1304.
- [2] PARK J O, LEE B H, KANG Y M, et al. Inflammatory cytokines induce fibrosis and ossification of human ligamentum flavum cells[J]. J Spinal Disord Tech, 2013, 26(1): E6-12.
- [3] WANG X, LI F F, XIE L, et al. Inhibition of overactive TGF- β attenuates progression of heterotopic ossification in mice[J]. Nat Commun, 2018, 9: 551.
- [4] RANGANATHAN K, LODER S, AGARWAL S, et al. Heterotopic ossification: basic-science principles and clinical correlates[J]. J Bone Joint Surg Am, 2015, 97(13): 1101-1111.
- [5] ŁĘGOSZ P, OTWOROWSKI M, SIBILSKA A, et al. Heterotopic ossification: a challenging complication of total hip arthroplasty: risk factors, diagnosis, prophylaxis, and treatment[J]. Biomed Res Int, 2019, 2019: 3860142.
- [6] 高悠水, 孙玉强, 张长青. 获得性异位骨化预防和治疗策略的研究进展[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2014, 34(6): 934-938.
- [7] THILAK J, PANAKKAL J J, KIM T Y, et al. Risk factors of heterotopic ossification following total hip arthroplasty in patients with ankylosing spondylitis[J]. J Arthroplasty, 2015, 30(12): 2304-2307.
- [8] 赵萌. 全髋关节置换术 5 年随访研究[J]. 现代预防医学, 2014, 41(14): 2686-2688.
- [9] SUNG HSIEH H H, CHUNG M T, ALLEN R M, et al. Evaluation of salivary cytokines for diagnosis of both trauma-induced and genetic heterotopic ossification[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2017, 8: 74.
- [10] HAYASHI D, GOULD E S, HO C, et al. Severity of heterotopic ossification in patients following surgery for hip fracture: a retrospective observational study[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2019, 20(1): 348.
- [11] LI L, JIANG Y, LIN H, et al. Muscle injury promotes heterotopic ossification by stimulating local bone morphogenetic protein-7 production[J]. J Orthop Translat, 2019, 18: 142-153.
- [12] LIU T, LI B, ZHENG X F, et al. Chordin-like 1 improves osteogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells through enhancing BMP4-SMAD pathway[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2019, 10: 360.
- [13] SUUTRE S, TOOM A, AREND A, et al. Bone tissue content of TGF- β 2 changes with time in human heterotopic ossification after total hip arthroplasty[J]. Growth Factors, 2009, 27(2): 114-120.
- [14] WANG L, WAN G, SHEN Y, et al. A nomogram to predict mortality in patients with severe fever with thrombocytopenia syndrome at the early stage: a multicenter study in China[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2019, 13(11): e0007829.

[收稿日期] 2021-08-04

[本文编辑] 瞿麟平

