

实验研究

海螵蛸接骨动物实验初步报告

福建中医学院骨伤研究所 王和鸣 刘 艺

一、前言

海螵蛸作为一味常用的中药，被用来修复骨缺损国内外尚未见文献报道，从目前的情况来看。用来修复骨缺损的材料仍是以新鲜自体骨为最佳，但临床上如遇到植骨量大，如外伤所致的大范围骨缺损，骨肿瘤术后所遗留的大空腔或幼儿植骨时，自体供骨简直不可能，且自体植骨又会给病人增加额外的手术痛苦，病人难以接受。因此，很多医家都在努力寻求一种与自体骨作用相近的理想接骨材料。本课题的研究就是以此为宗旨而设计的。怎样才算理想的接骨材料呢？理想的接骨材料应该是生物适应性好，具有良好的成骨作用，来源广、取材易，能够大量贮存且能常温保存、易普及。根据这一目的要求，经过大量的文献研究，我们做出了用中药海螵蛸经过化学方法处理后用作接骨材料的大胆设想。

骨移植是骨伤科的经常性工作，供骨困难是突出问题。目前除了自体骨的效果肯定外，同种异体骨及异种骨均有许多问题有待解决。从理论上讲，骨性移植物不外乎起两种作用：一是骨传导作用，即以移植物为支架，使宿主的血管和细胞进入其中形成新骨，移植物被吸收并渐被新骨替代。其二是诱导作用，是指移植物有刺激宿主的间充细胞转化为成骨细胞，形成新骨。近年来大家除了对植骨的骨传导作用研究较多外，对诱导成骨的研究也大大增多。随着这种研究的深入，异种骨移植又被人们重视了，特别是Kiel骨的可商品化这一点十分吸引人。另外也有人跳出骨移植的框框，致力于人工骨材料的研究，如用与骨的无机盐成份相近的多细孔物质充填骨缺损或治疗骨不连等，尽管是处于研究阶段，但这种大胆的尝试不无可取之处。骨移植是骨科界的热门研究课题，其现状是各种方法都有人应用，又都有一定的缺点和应用价值。鉴于这种情况，国内有许多医家致力于中医药对骨愈合影响的研究，试图从祖国医学的宝库中找到至胜的法宝。北京、上海、贵阳、武汉、洛阳等地在这方面做了大量的研究工作，都取得可喜的成绩，此处不一一例举了。本课题也是采用中药结合现代科学方法来研究骨缺损的治疗问题，无疑是中医骨伤科研究中的一新的尝试。

二、海螵蛸的一般研究

海螵蛸又名乌贼骨，是海洋动物墨鱼的内贝壳，其化学成份主要为碳酸钙约占80~85%，壳角质占6~7%，粘液质占10~15%，并含有少量的氯化钠、磷酸钙、镁盐、蛋白质等，作为除湿、制酸、止血药在临床上用途很广，但作为接骨材料来修复骨缺损尚无人采用过。从其组织切片上来看，它又具有类似松质骨的网眼样结构，且互相连通，将有利于宿主血管、细胞的进入，是起桥接作用的理想材料。质地虽松脆，起不到支撑作用，但却有利于吸收替代的进行。作为一种异物海螵蛸植入动物体内其组织适应性是否理想呢？1962年天津医药报道，用海螵蛸制成的止血海绵，除了具有良好的止血作用外，还具有对组织刺激性小，炎症反应轻，能够被组织吸收的特点。当然这一事例不能说明海螵蛸对人体的刺激性是极微的。再加上用戊二醛进行适当地处理，将使其生物适应性更加理想。曾有人做过用戊二醛处理牛心包后来修复兔的软脑膜的动物实验，证明戊二醛能使组织中胶原纤维内的氨基酸分子间和分子内形成共价交联，能结合蛋白而达永久的稳定，从而降低其抗原性，使宿主的免疫反应最轻，当然这一理论设想与实际情况有多大差别，只有做了实验后才能清楚。

三、海螵蛸接骨动物实验

从饲养场购进大耳成年白家兔20只，6雌、14雄，饲养半个月后，动物健康，未发现患病表现，实验前动物体重为5~6斤之间

(一) 实验的材料和方法：将海螵蛸预先制成与兔桡骨粗细相同一厘米长的圆柱状物（去掉海螵蛸的外壳），用1:2000W庆大霉素液冲洗三遍后，放于pH7.4, 0.65%戊二醛溶液中浸泡10小时，换液体后再泡10天，取样做细菌学检查，证明海螵蛸外表及内部均无菌生长后，保存备用，麻醉选用2%戊巴比妥钠溶液，每公斤体重给1.5毫升（按30毫克/公斤）无菌条件下用线锯将家兔双侧桡骨中1/3部做成1厘米全缺损，右侧为实验侧，植入处理好的海螵蛸，左侧为对照侧，直接缝合切口。术后即刻，一个月，二个月、三个月各摄X线片一次，术后10天、20天、30天、60天各抽杀2只做病理切片检查，三个月全部宰杀，做病理切片。

(二) 实验结果的评判标准：1、X线片评判

标准：(1)骨化影，与术后即刻摄制的原始片相比较，缺损区出现密加度深的条状、片状或云雾状阴影，占缺损区面积1/3的为“+”，占2/3的为“++”。(2)骨愈合影：条状、片状或云雾状骨化影融为一体，密度较前明显加深者为骨愈合影。占骨缺损区的1/3~2/3之间为“+++”，占2/3以上者为“++++”。2、大体标本的评判标准：缺损区完全为新生骨修复，无其它组织夹于其中者为“优”缺损区被新生骨充填1/2以上，伴有软骨者为“良”；缺损区两断端虽有骨痂生长，未能越过缺损区达骨连接，或中央部夹有软组织样物者为“差”。3、病理切片的评判标准，切片镜检均为新生的骨小梁，未见到软骨及残剩的海螺蛸结构为“优”；镜检见到新生骨小梁，夹有少量的未完全骨的软骨、并偶见残剩的海螺蛸框架结构为“良”；镜检虽有新生骨小梁，但量少，未融合成片，或伴有大量的异物肉芽肿和残剩的海螺蛸为“差”。4.综合评价：骨愈合影为“++++”，大体标本为“优”或良，病理切片检查为“优”，综合评价为“优”；骨愈合影为“+++”大体标本为“良”，病理切片检查为“良”，综合评价为“良”未达到骨愈合标准，大体标本及病理切片检查为“差”者，综合评价为“差”。

(三)实验结果：1、一般情况：术后2~3天动物精神、食欲恢复正常，解除敷料后，术处均无分泌物、无红肿、二周时体查，有2例右侧术处有软组织隆起，穿刺未抽到任何物体。一个月时体查，2例右侧术处有软组织隆起物已完全消退，无一例发生感染。2、X线片情况：20只实验动物随机抽出8只作为分期宰杀用，未行连续X线片检查。(1)术后一个月的X线片——右侧植海螺蛸缺损区12侧有9侧骨化影为“+++”，3侧为“++”左侧空白缺损区12侧中有3侧骨化影达“+++”，9侧为“++”(2)术后二个月的X线片——右侧植海螺蛸缺损区有8侧骨愈合影达“+++”，4侧为“++”，左侧空白缺损对照区有3侧骨愈合影达“+++”，9侧与前相比无明显变化。(3)术后三个月的X线片——右侧植海螺蛸缺损区有8侧骨愈合影为“++++”，1侧为“+++”，3侧未连接；左侧空白缺损对照侧有2侧骨愈合影达“++++”，1侧达“+++”9侧未连接。3、大体标本情况：(1)术后10天宰杀的标本、右侧缺损处所植的海螺蛸呈肉红色，紧密地嵌于两断端之间，未见到明显地软组织反应表现；左侧空白缺损对照区骨断端无明显变化。(2)术后20天宰杀的标本，一例右侧植海螺蛸区内肉眼观已看不见海螺蛸，整个缺损区被软骨和机化的肉芽所充填；有一例尚能见到被软骨及肉芽包裹着的海螺蛸；空白缺损对照侧两断端均有骨痂生长，但离连接尚差很远。(3)

术后一个月宰杀的标本，右侧植海螺蛸缺损区主要被骨性骨痂和软骨骨痂所填充，未见到海螺蛸的痕迹；对照侧两断端的骨痂明显靠近，但仍未连接。(4)术后二个月宰杀的标本，一例因海螺蛸离开缺损处有严重的软组织反应海螺蛸被炎性肉芽肿样物包裹，缺损区两骨折断端的骨痂生长紊乱未能连接。另一例，右侧缺损区已完全被骨性骨痂所修复，新生骨的结构较疏松、很象松质骨的结构。(5)术后三个月将12只动物全部宰杀，剥开软组织后，右侧标本达“优”者8例，1侧达“良”，3侧标本“差”，这3侧所植的海螺蛸均有移位，离开了缺损区，软组织反应严重；左侧标本达“优”者2侧，1侧达“良”，9侧未连接。

四、病理切片检查

(1)术后10天的标本病理切片镜检——海螺蛸的框架中有大量细胞进入，以白细胞为主，海螺蛸的周缘部已被破坏，并有肉芽组织长入其中，海螺蛸的中央部框架结构尚完整，框架中含有大量的白细胞和红细胞，部分红细胞已解体。

(2)术后20天的标本病理切片镜检——海螺蛸已大部分被吸收，整个切片呈现一种肉芽向软骨，软骨向骨化方向发展的综合表现，海螺蛸的框架结构在切片中多处可见。

(3)术后30天的标本病理切片镜检——30天的标本切片上仍是肉芽组织向软骨，软骨向骨化方面发展的综合表现，只是在量的方面，肉芽组织较20天标本的切片减少，骨小梁增多，软骨向骨化发展的表现增多；切片中仍偶见海螺蛸的残剩框架结构，新生的骨小梁排列紊乱，如漩涡状。

(4)术后60天的标本病理切片检查——整个切片见到大量的新生骨小梁，伴有少量的软骨仍可偶见海螺蛸的残剩结构，新生骨小梁排列很乱，其间血管很多，另一例标本切片因海螺蛸移出缺损区，异物反应严重，镜下见异物肉芽肿的表现及许多坏死组织，海螺蛸结构被破坏、吸收较少。

(5)术后90天的标本切片镜下已见不到海螺蛸结构及软骨，整个切片均为新生的骨组织，其间夹有很多血管，骨小梁的排列虽较60天的明显整齐，但与宿主骨的骨小梁相比仍紊乱、疏松，其排列的形态近似海螺蛸的框架结构。从90天全部宰杀的12只实验动物标本切片的情况来看，达到上述“优”者有8侧，另有1侧稍差算“良”，所剩3侧因海螺蛸离开缺损区的缘故，发生较强的异物反应，病检“差”。其镜下表现与60天标本中的那例有异物反应的镜下表现很相似，以异物肉芽肿与炎性坏死物为主。空白缺损对照侧在以上各期的情况是，10天、20天和30天

的标本切片反应出，断端骨外膜先增生肥厚，有新骨形成，向缺损区延伸，靠近断端处有机化的血肿和肉芽组织形成，20天标本切片上见紧靠着断端处已有软骨形成，与骨外膜骨痂融为一体，30天时软骨已大部骨化，由于两断端的这种新骨不断生长，使缺损范围明显缩小，但缺损的中央部未见到以上的成骨表现，只有纤维组织。60天标本切片镜检，软骨骨化已结束，两断端未能连接，中央有纤维组织相隔，末端的骨质致密，渐细。90天的12例标本中有3例完全骨连接，且骨小梁的排列较植物海螵蛸90天标本的骨小梁排列

为齐，也较其致密，另外9例均未连接，表现同60天的标本，仅是末端骨质更加致密。综合以上情况，综合评价植海螵蛸的实验侧有8侧达“优”1侧达“良”，3侧为“差”；空白缺损对照侧有3侧达“优”9侧为“差”。

将综合评价达到“良”或“良”以上者定为骨缺损愈合；“差”者为缺损未愈合。这样实验侧有9侧达骨愈合，3侧未愈合；对照侧3侧达骨愈合，9侧未愈合，用四格表精确检验法将两组缺损的骨愈合情况进行统计学处理：

组 别	愈 合 数	未 愈 合 数	统 计 学 处 理	P
实 验 侧	9	3	实验侧愈合情况 与 对照侧愈合情况	<0.05
对 照 侧	3	9		

从表中所见两组骨缺损，愈合情况的差别有显著意义。

讨 论

(1) 海螵蛸的生物适应性：经过戊二醛处理后的海螵蛸，植入动物体内的早期虽有几例有轻度的软组织反应，但在很短的时间内便消除了。从各期宰杀的标本切片上看，虽见有异物巨细胞，但反应都很轻，对骨缺损的修复无影响。从实验的整体反应情况来看，经过戊二醛处理的海螵蛸，其生物适应性是理想的。

(2) 海螵蛸的桥梁作用：海螵蛸的多微孔结构，植入动物体后，宿主细胞能大量进入其中，由于这些细胞昼夜不停地工作，海螵蛸由边缘向中央部被逐步吸收，肉芽组织随后长入其中，宿主血管也随之进入，最后海螵蛸被完全吸

收替代，经过肉芽向软骨，软骨向骨化的变化过程，骨缺损最终被新生骨所修复，在这一过程中，海螵蛸起到了必不可少的桥梁作用。

(3) 海螵蛸吸收的速度及新生骨的质量：从60天的标本切片上仍能见到残剩的海螵蛸框架结构，且早期形成的新生骨排列紊乱，即使到3个月时骨小梁的排列仍松散不齐，且很似海螵蛸的结构形态，因为实验的时间太短，且仅有空白缺损组作对照，对以上两个问题尚需作更进一步的研究才能下结论。

以上是海螵蛸接骨动物实验的初步报告，海螵蛸的生物适应性和在修复骨缺损过程中所起的桥梁作用是肯定，但仍有许多问题要做进一步的研究，笔者认为海螵蛸作为骨移植的替代材料确有值得进一步研究的价值。

《中国 传统手法防治学》

征 订 启 事

《中国传统手法防治学》作者胡兴立，总政玉泉路干休所门诊部主治医师，中国骨伤人才技术协会副秘书长。幼年勤奋好学，酷爱医术，拜江苏骨伤科名家周相堂为师，历时三载，庭训严谨，教导有方，尽得真传，始行医于乡里，1964年调北京工作，得到刘寿山、郑怀贤等名家指点，造诣颇深、尤善手法治疗各种疾病，求治者达万人，皆得心应手。

胡兴立医师在学术上扬长补短，不为常规所拘泥，善于集诸家之长溶于一体，施用手法是别具一格。他30年之临床实践，摸索积累丰富的手法经验编写成《中国传统手法防治学》，经全国

著名骨科专家尚天裕审阅，并为该书作序，本书主要以手法治疗为主，增篇有针灸（双针刺疗法）、中药穴位注射法、小针刀疗法、中药内服和外用药等法。章节紧凑、内容新颖，是一部以手法治疗为主的综合疗法的参考书，有预防和治疗的价值，可供骨伤科医务工作者和业余爱好者自学参考之教材，全书共分10卷、计字20余万，插图477余幅，为32开版本，1989年10月由中国侨联出版公司出版，定价4.90元（每本加10%邮费）。欢迎宣传，欢迎订购。

联系地点：《中国骨伤》杂志编辑部。
联系人：苏焕娥。