

# 几丁质-硅胶复合膜引导性骨再生的实验研究

陈锦平<sup>1</sup> 张帆<sup>1</sup> 赵仲生<sup>1</sup> 潘晓华<sup>1</sup> 王官将<sup>2</sup> 曹梅迅<sup>3</sup> 徐文娟<sup>1</sup>

(1. 浙江省人民医院, 浙江 杭州 310014; 2. 上海第二军医大学, 上海; 3. 上海昆虫研究所, 上海)

**【摘要】** 目的 通过对 GBR 连续组织学研究及放射学检查, 探讨几丁质-硅胶复合膜在引导性骨再生(guided bone regeneration GBR)中的作用。方法 取新西兰兔 24 只, 造成双侧桡骨 15mm 骨缺损, 将 48 只肢体平均分为 A、B、C、D 组, 每组各 12 只肢体, 分别用几丁质-硅胶复合膜、几丁质膜、硅胶管及空白对照。于手术后 2、4、6、8、12、16 周处死每组各两只兔, 标本行 X 线及组织学检查。结果 几丁质-硅胶复合膜组的骨缺损区在成骨活动的活跃程度、骨再生量和再生髓腔结构等方面均优于单纯几丁质、硅胶管及空白对照组( $P < 0.05$ ), 使骨缺损得到了修复。结论 几丁质-硅胶复合膜能促进内、外骨痂的生长。

**【关键词】** 引导组织再生 骨痂 组织学, 比较

**Experimental study of guided bone regeneration with chitin silica gel complex pellicle** CHEN Jirping, ZHANG Fan, ZHAO Zhong-sheng, et al. The People's Hospital of Zhejiang Province (Zhejiang Hangzhou, 310014)

**【Abstract】 Objective** To explore the role of chitin silica gel complex pellicle in the process of guided bone regeneration (GBR) by using continuous histological study and radiological examination **Methods** Bone defects of 15mm on bilateral radius were created in 14 New Zealand rabbits. The 48 limbs were equally divided into 4 groups: A. chitin silica gel complex pellicle group; B. chitin pellicle; C. silica tube and D. control group. Two rabbits in each group were sacrificed at 2nd, 4th, 6th, 8th, 12th and 16th weeks after operation and the samples procured at the fracture sites were used for X ray and histological examinations. **Results** The osteoblastic activity, quantity of regenerative bones and regenerative marrow cavity structure in the bone defect region of group A were much better than those of group B, C and D ( $P < 0.05$ ). The bone defect was repaired well in group A. **Conclusion** Chitin silica gel complex pellicle might be able to promote growth of interior and external callus.

**【Key Words】** Guided tissue regeneration Callus Histology, comparative

骨科临床中, 各种骨缺损十分常见, 是个亟待解决的难题。引导性骨再生(Guided Bone Regeneration, GBR)是 80 年代末出现的热门课题, 在以往的动物实验中, 用几丁质能促进外骨痂生长<sup>[1]</sup>, 用硅胶膜能促进内骨痂生长<sup>[2]</sup>。本研究的目的是将几丁质-硅胶复合膜用于实验, 预期使内外骨痂同时迅速生长, 以解决骨缺损疑难。本实验通过对 GBR 连续组织学研究及放射学检查, 探讨几丁质-硅胶复合膜在 GBR 中的作用。

## 1 材料与与方法

**1.1 几丁质膜管及几丁质-硅胶复合膜的制备** ①选用中科院上海昆虫研究所提供的精制(蚕蛹)几丁质粉末, 溶解于氯化锂(LiCl)和 2 甲基乙酰胺(Me2NAC)混合液中, 制成 3% 几

丁质胶状物, 灌注并充盈于特制的管型模具中, 在生理盐水中固定 15~30 分钟定型后, 从模具中脱离, 便得到外径 5mm、内径 4mm、壁厚 1mm 的几丁质管状结构。②取外径 5mm, 内径 4mm, 长 20mm 的医用硅胶管, 浸于几丁质胶状物中, 然后在生理盐水中固定定型, 几丁质膜粘附于硅胶管内、外壁, 便得到几丁质-硅胶复合膜。生理盐水漂洗后, 75% 酒精浸泡消毒备用。

**1.2 动物实验及分组** 新西兰兔 24 只, 雌雄不限, 体重 1.5~2.5kg(平均 2.0kg), 氯胺酮 3~4mg/Kg 肌注麻醉, 双前肢常规方法脱毛、灭菌, 采用手术方法对每只大白兔造成双侧桡骨 15mm 骨缺损(于桡骨中段隆起处纵行切口 3cm, 沿肌间隙, 游离桡骨切开骨间膜, 连同骨膜截除桡骨 15mm), 24 只兔分为 I 组、II 组。I 组: 左前肢为 A 组, 骨缺损处, 用几丁质-硅胶

复合膜套接两骨端,覆盖骨缺损,使其成为完全闭合的管腔,逐层缝合伤口;右前肢为 B 组,桡骨缺损采用几丁质膜管覆盖,环形包绕两骨端。II 组:左前肢为 C 组,桡骨缺损处用硅胶管套叠覆盖;右前肢为 D 组,桡骨缺损,不用任何膜管覆盖,作为空白对照。A、B、C、D 每组各为 12 只肢体。

**1.3 X 线检查** 手术后 2、4、6、8、12、16 周对双侧桡骨缺损区域拍摄 X 线片,观察骨修复情况,条件固定不变。

**1.4 组织学检查** 术后 2、4、6、8、12、16 周,每组各处死实验兔 2 只,在距骨缺损端约 1cm 处截断尺、桡骨,标本脱钙、脱水后,沿桡骨长纵轴剖开,石蜡包埋,5 $\mu$ m 厚切片,HE 染色,光学显微镜观察。

## 2 结果

**2.1 一般情况** 所有兔切口 I 期愈合,个别兔术后有一过性发热。A、B 组 2 周时,局部有乳白色颗粒状物,4 周消失;各组最终未出现感染、排异等情况。

**2.2 X 线检查** 术后 2 周:A、B、C、D 组,骨缺损处未见明显骨痂生长及钙化征象。

术后 4 周:A 组:骨缺损处几丁质-硅胶复合膜内外出现絮状骨痂影。B 组:骨缺损处出现部分新生骨(外骨痂)由两端向缺损中心生长。C 组:硅胶管内出现少量骨痂影。D 组:骨缺损处,有少量骨痂影(血肿机化)。

术后 6 周:A 组:骨缺损处,复合膜内、外出现中等量内外骨痂。B 组:骨缺损处,外骨痂逐渐增多。C 组:硅胶管内有少量内骨痂。D 组:骨缺损处,骨痂变尖。

术后 8 周:A 组:几丁质-硅胶复合膜内外有较多内、外骨痂。B 组:外骨痂连续通过骨折端。C 组:硅胶管内有中量内骨痂。D 组:骨折端变钝圆,骨髓腔封闭(见图 1)。

术后 12 周:A 组:几丁质-硅胶复合膜周围内、外骨痂连续通过骨折端。B 组:外骨痂连续通过骨折端。C 组:硅胶管内内骨痂连续通过骨折端。D 组:骨折端钝圆,硬化呈骨不连征象。

术后 16 周基本同上。

**2.3 组织学检查** 术后 2 周:A 组:在几丁质-硅胶复合膜周围有较多成纤维细胞及多核巨细胞,形成异物肉芽肿,部分骨膜细胞沿复合膜内、外壁生长。B 组:成纤维细胞,在几丁质的外表面形成,部分骨膜细胞从膜管的近、远侧边缘开始生长,逐渐向中央发展。C 组:部分骨膜细胞向硅管内沿血肿生长。D 组:骨缺损内血肿机化,结缔组织及毛细血管占据骨缺损处。

术后 4 周:A 组:复合膜周围的新骨沿血肿结构向骨缺损中央生长。B 组:几丁质本身逐渐降解,在其周围及中间有纤维组织形成,并可见多核巨细胞,环形膜管内两骨端处有少量新生骨组织生长。C 组:硅胶管内,新骨沿血肿生长。D 组:骨缺损处,结缔组织中,纤维细胞增多,组织趋于成熟,骨端新骨无进一步再生。

术后 6 周:A 组:复合膜周围已形成新生骨连接,连接处为条状软骨,两侧骨小梁边缘成骨细胞活跃(见图 2)。B 组:有连续外骨痂形成,几丁质膜吸收殆尽(见图 3)。C 组:硅胶管内缺损处已为新生骨所连接,新生骨小梁结构完整,少数为带状纤维软骨,将两侧新生骨端连接(见图 4)。D 组:骨缺损

处均发生骨不连接,骨及软骨组织闭合,骨髓腔骨端圆钝,纤维结缔组织嵌插在两断端中间(见图 5)。

术后 8~16 周基本情况同前。

各组骨缺损愈合只数:A 组 6 只,B 组 4 只,C 组 3 只,D 组 0 只,将术后 16 周时 A、B、C、D 组,骨缺损愈合只数进行  $\chi^2$  检验,结果表明,A、B、C、D 各组间有非常显著差异( $P < 0.01$ ),A、B、C 各组间有显著差异( $P < 0.05$ ),几丁质-硅胶管组的愈合率明显高于其它各组。

## 3 讨论

节段性骨缺损的修复是骨科临床的一大难题,通常认为,骨组织周围的成纤维细胞、结缔组织成分向骨缺损区生长的速度较具有成骨潜能的组织细胞为快,这是形成骨不连接的主要原因之一。在骨缺损周围建立一机械性阻隔,可避免骨缺损的纤维愈合,而形成骨性连接。

**3.1 膜在 GBR 中的作用** 引导性骨再生,其理论基础是不同组织细胞向创口内生长再生的速度不同,通过放置膜形成一个物理屏障,阻止其它组织细胞的长入,从而为所选择组织细胞的分化、增殖提供一个引导空间,完成组织再生与修复过程,骨组织是经再生方式完成损伤修复的少数组织之一。

本实验术后 2 周,观察到骨缺损区周围的成纤维细胞活跃增生,可见骨损伤后,不仅骨形成细胞受创伤炎症的启动开始修复过程,周围结缔组织同样也被启动,并以其自身的方式参与骨缺损修复。一种为骨形成,一种为纤维形成,Urist 等<sup>[3]</sup>认为,由骨端延伸的骨形成速度必须快于由周围软组织、肌肉而来的纤维化过程,才能保证骨缺损的再生修复。本实验中,术后 2 周,对照组骨端骨髓基质细胞骨膜细胞增殖与肌肉等结缔组织中的纤维细胞增殖比较起来,要逊色得多,以致于 2 周后空白对照组骨缺损区已为纤维细胞等填充,占据骨缺损区。

仅就周围软组织与缺损区的相邻面积、距离等因素而言,也不难理解,当骨缺损达到一定限度后,缺损区必将为纤维组织所替代,实验组骨缺损区复合膜内、几丁质膜内及硅胶管内没有明显纤维结缔组织,膜外却形成厚厚的纤维细胞层,说明复合膜等起到了将周围结缔组织排斥在骨缺损区外的作用,这是 GBR 原理的核心。

**3.2 GBR 中骨膜的作用** 骨膜外部纤维层在整个骨修复过程中,都作为一个使骨与周围组织隔离的膜结构而存在。本实验及其他 GBR 实验中,膜与骨面接触部及缝合而成的硅胶管等均难以达到绝对阻挡细胞长入的密闭性,但这种缺陷很快为增生的骨膜所弥补。另一方面,复合膜硅胶膜管等也构成了骨膜增生的支架,使骨膜沿复合膜管壁生长,防止了实验组骨折端像对照组那样及早为新生骨膜所封闭成为盲端。可见骨膜在骨再生中有 2 个基本作用,即生发层提供骨形成细胞,纤维层则将其与周围组织隔开,防止骨端结构过早闭合,也应是 GBR 原理之一。

**3.3 膜材料对 GBR 成骨方式的影响** 引导性组织再生是通过膜的作用来实现的,理想的膜除具有内植物所需的一般条件外,尚应有:①膜的存在应具有一定时间,其完全吸收应在组织再生之后;②膜本身及其水解或酶解产物不对组织再生起抑制作用。几丁质是一种 N-乙酰葡萄糖多聚体的天

然高分子材料,具有无毒、无害、组织相容性好等特点<sup>[4]</sup>,实验证明几丁质能促进外骨痂形成。硅胶是长期以来实验与临床均证明了惰性材料,有一定的力学强度<sup>[5]</sup>,实验中,在硅胶膜管内有骨再生,能促进内骨痂的形成。我们采用几丁质-硅胶复合膜,各取所长,引导骨再生。实验结果表明,几丁质-硅胶复合膜的骨缺损区在成骨活跃程度、骨再生量和再生髓腔结构等方面均优于单纯几丁质、硅胶管及空白对照组,可见有其良好的应用前景。

(本文图 1~5 见插页 4)

#### 参考文献

- [1] 倪斌,侯春林,贾连顺,等.几丁质膜引导兔桡骨缺损再生的实验研究.中华骨科杂志,1995,15(9):607-609.
- [2] 张子军,卢世壁,王继芳,等.引导性骨再生过程的实验研究.中华骨科杂志,1995,15(9):614-616.
- [3] Urist MR, Mclean FC. Recent advances in physiology of bone. J Bone Joint Surg( Am), 1963,45(9):1305-1308.
- [4] 侯春林,卢建熙,包聚良,等.几丁质生物学特性研究.中国修复重建外科杂志,1993,7(1):115-117.
- [5] Canalis RF, Bunstein FD. Osteogenesis in vascularized periosteum. Arch Otolaryngol, 1985, 111(4):511-514.

(收稿:2000-03-30 修回:2000-11-17 编辑:李为农)

## • 影像分析 •

# MRI 对于颅底凹陷症的诊断价值

贾守强 李娜 陈颖

(莱芜市人民医院,山东 莱芜 271100)

颅底凹陷症是枕骨大孔区一种常见的先天性畸形。本病分为先天性与继发性两种。对于该病的 X 线平片及 CT 的研究报导较多<sup>[1,2]</sup>,而对该病的磁共振诊断报导较少。本文笔者选取了 21 例先天性颅底凹陷症患者,进行了 MRI 扫描并与 CT、X 线平片进行了比较,认为 MRI 目前应作为颅底凹陷症首选检查方法。

### 1 材料与方 法

**1.1 一般材料** 本组 21 例,男 7 例,女 14 例。年龄 17~42 岁,平均 27.5 岁。主要临床表现:头痛、头晕 9 例;项部及上肢疼痛 5 例;四肢麻木无力、眼球震颤 1 例;大、小便障碍 2 例;步态不稳 2 例;吞咽困难 2 例。全部病例均行 MRI、CT 及 X 线平片检查,部分病例经手术证实。

**1.2 方法** MRI 扫描应用 AIRIS 0.3T 磁共振成像仪,使用头线圈,自旋回波(SE)序列,矢状位、冠状位及轴位, T<sub>1</sub> 加权像 (TR/TE/FA 500/20/60), T<sub>2</sub> 加权像 (TR/TE/FA 4000/117/90°),层厚 5mm,间距 6mm。CT 扫描应用 MAX640CT 扫描仪,包括薄层轴位、冠状位扫描及矢状重建。X 线平片摄头颅水平侧位片,部分病例加用体层摄影。

### 2 结 果

MRI 诊断准确性最高,同时显示并发小脑扁桃体下疝 10 例(48%),颈、延髓长 T<sub>1</sub>、长 T<sub>2</sub> 信号改变 19 例(90%),颈椎管及其它颅底骨发育异常 14 例(见图 1)。CT 检出 16 例,同时显示并发小脑扁桃体下疝 5 例,其它颈椎管及颅底骨发育异常 8 例。X 线平片检出 11 例,同时显示并发其它颈椎管以及颅底骨发育异常者 4 例。

### 3 讨 论

原发性颅底凹陷症主要特点在于枢椎上升,甚至突入枕骨大孔,导致枕骨大孔前后径缩短。此病还可并发颈髓、脑干及小脑病变,以及颈椎管及其它颅底骨发育异常。随着医学影像检查手段的不断提高及人们对该病的逐步认识,对于此

病的诊断标准也逐步得到统一。主要标准如下:颅底角,即蝶骨体的长轴与斜坡构成的夹角超过 145°。齿状突尖端超过由硬腭后缘至枕大孔后缘所作连线水平 5mm 以上;齿状突尖端至鞍结节和枕内粗隆连线的距离小于 30mm(见图 2,3)。

颅底结构复杂且本病易并发多种其它颈椎管及颅底骨发育异常。X 线平片为人体不同平面的结构影像重叠在同一平面上的表现,而且在重叠的影像中,两重叠阴影密度相似,因此在观察重叠的影像时,往往不易区分出各自的结构,分辨率低,很难显示颅底凹陷情况,故诊断准确性很低,本组为 52%。另一方面,X 线平片难以显示出脑组织结构的并发情况。CT 的应用较 X 线诊断准确性大有提高,但现有 CT 大多不能直接完成矢状扫描而重建图像又较模糊,分辨率低,不能清晰地显示测量解剖标志点。对于各径线的测量误差较大,诊断准确性亦偏低,本组为 76%。MRI 在 T<sub>1</sub>WI 皮质下骨的高信号能够很好地衬托出无信号的皮质骨,解剖标志点清晰,各径线的测量非常精确。同时 MRI 还可清晰地直接显示出该病所易并发的多种疾病,如脑干、小脑及颈髓的受压缺血变形部位,小脑扁桃体下疝,脑积水,脊髓空洞症,环枕融合畸形等。另一方面,CT 及 X 线检查需要患者处于不同的体位,而患者又大多具有头痛、头晕及肢体运动障碍等表现,故较难给以配合。MRI 扫描只需患者安静仰卧即可完成矢状、冠状及轴位扫描,从而减轻了患者变换体位的痛苦。

目前,影像学检查方法较多,但为了降低误、漏诊率,减轻患者痛苦,对疑有颅底凹陷症的检查应首选 MRI。

(本文图 1~3 见插页 3)

#### 参考文献

- [1] 巩若箴,周存升,柳澄.原发性颅底凹陷症的 CT 一病理研究.中华放射学杂志,1996,30(6):389-391.
- [2] 巩若箴,周存升,吕宗光.原发性颅底凹陷症的 CT 表现及径线测量.中华放射学杂志,1997,31(9):634-635.

(收稿:2000-04-24 修回:2000-09-04 编辑:李为农)

## 几丁质-硅胶复合膜引导性骨再生的实验研究

(正文见 405 页)

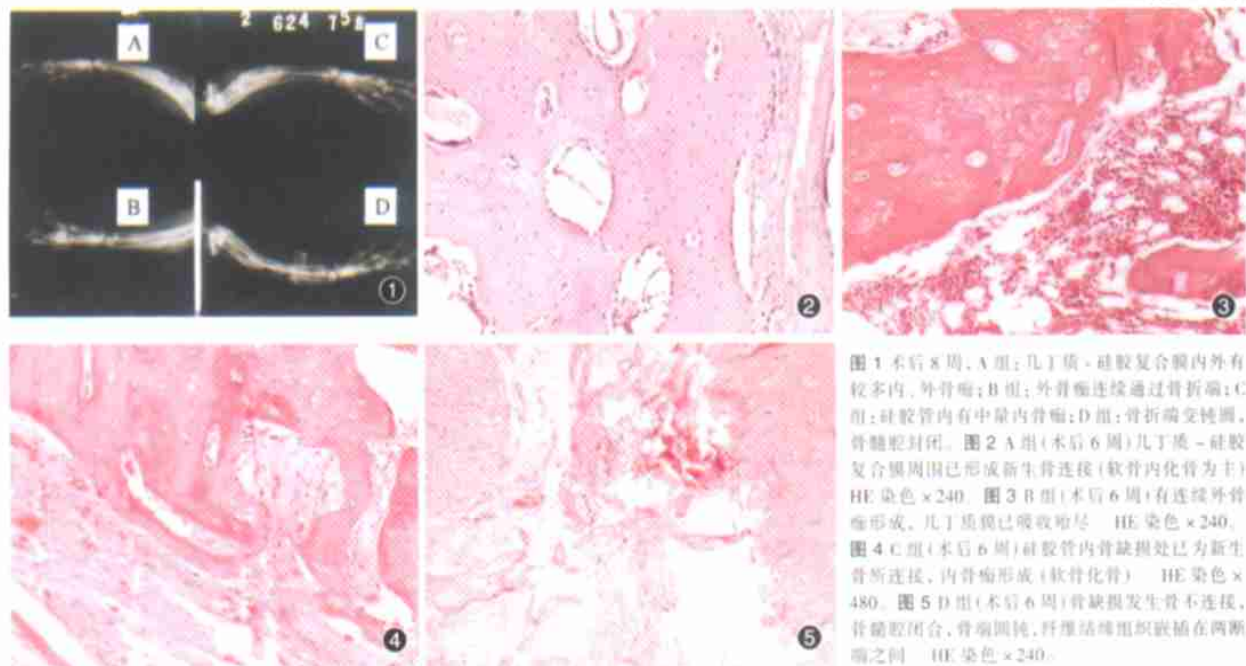


图 1 术后 8 周。A 组:几丁质-硅胶复合膜内外有较多内、外骨痂;B 组:外骨痂连续通过骨折端;C 组:硅胶管内中有中量内骨痂;D 组:骨折端变钝圆,骨髓腔封闭。图 2 A 组(术后 6 周)几丁质-硅胶复合膜周围已形成新生骨连接(软骨内化骨为主) HE 染色  $\times 240$ 。图 3 B 组(术后 6 周)有连续外骨痂形成,几丁质膜已吸收殆尽 HE 染色  $\times 240$ 。图 4 C 组(术后 6 周)硅胶管内骨缺损处已为新生骨所连接,内骨痂形成(软骨化骨) HE 染色  $\times 480$ 。图 5 D 组(术后 6 周)骨缺损发生骨不连接,骨髓腔闭合,骨端圆钝,纤维结缔组织嵌插在两端之间 HE 染色  $\times 240$ 。

## 激素性股骨头坏死病机的实验研究

(正文见 408 页)

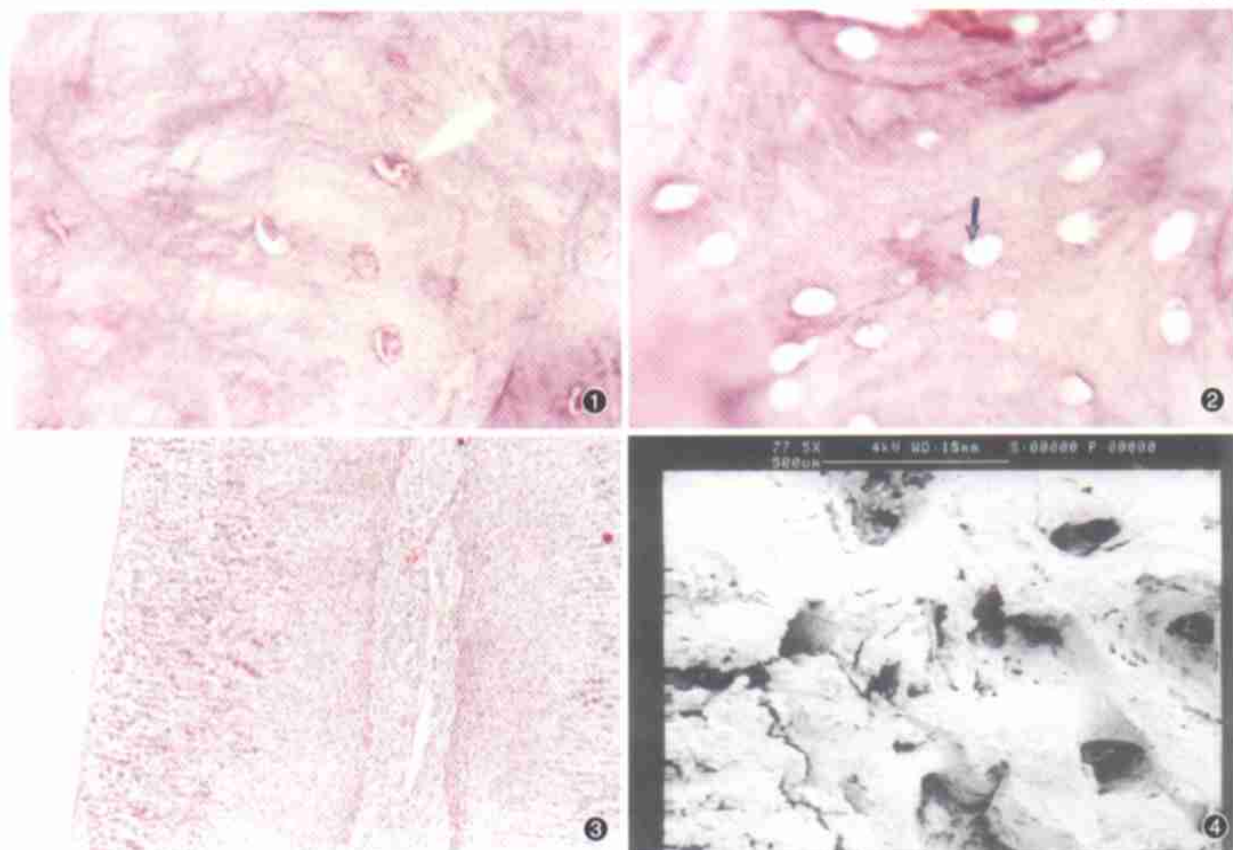


图 1 正常组:骨髓腔内骨髓细胞。(箭头示) HE  $\times 400$ 。图 2 模型组:骨髓腔内骨髓细胞坏死, HE  $\times 400$ 。图 3 模型组:萎缩的肾上腺,束状带细胞排列紊乱, HE  $\times 40$ 。图 4 模型组:骨小梁结构,扫描电镜  $\times 25000$ 。