

三种移植骨材料修复骨缺损能力的比较研究

王金成 陈伟 高忠礼 段德生
(吉林大学中日联谊医院, 吉林 长春 130031)

【摘要】 目的 研究单纯异种无机骨、复合骨髓异种无机骨以及自体皮质骨修复骨缺损的能力。方法 取健康 6 月龄纯系新西兰大白兔 22 只, 制作兔桡骨节段性骨缺损 (1.5cm) 模型。根据植入物的不同, 随机分为自体皮质骨组 (10 肢), 单纯异种无机骨组 (10 肢), 复合骨髓的异种无机骨组 (20 肢) 和空白对照组 (4 肢)。术后 2、4、6、8、12 周进行放射线片和组织学观察。结果 单纯异种无机骨植入组, 直至 12 周, 仍为缓慢的骨传导过程, 周边骨小梁向无机骨内爬行替代, 异种无机骨内大部分为纤维组织, 只有少数中心区域有新骨形成。而复合骨髓的异种无机骨植入后 2 周即有新骨形成, 8 周无机骨基本吸收替代完毕, 12 周髓腔形成、塑形改造, 基本相当于自体皮质骨移植的融合速度。结论 复合骨髓的异种无机骨的成骨能力明显优于单纯异种无机骨, 与自体皮质骨相当。

【关键词】 骨移植; 移植, 异种; 骨缺损

Comparative study on bone defect repair potentiality of three bone transplant materials WANG Jin-cheng, CHEN Wei, GAO Zhong-li, et al. China-japan Union Hospital of Jilin University (Jilin Changchun, 130031)

【Abstract】 **Objective** To study the ability bone defect repair of heterogenous inorganic bone, the compound of heterogenous inorganic bone and red bone marrow, autogenous bone **Methods** 22 rabbits were used (healthy, 6-month, pure line, New zealand large white rabbit) for this experimental study. 1.5cm bone defect model was made in each side of the radius. It was randomly divided into the implantation of autogenous bone group (10 forelegs), heterogenous inorganic bone group (10 forelegs), the compound of heterogenous inorganic bone and red bone marrow group (20 forelegs), and nothing as control group. Histological technique and x-ray examination were done after operation at 2, 4, 6, 8, 12 weeks. **Results** In the group of heterogenous inorganic bone, the bone formation was still slow after 12 weeks, and the peripheral bone trabeculae were still devoid of creeping replacing into the inorganic bone and chiefly consisted of the fibrous tissues; and only in some small central areas there were some newly-formed bone. But in the group with compound bone of heterogenous inorganic bone and red bone marrow there was new bone formation and remodeling nearly similar to autogenous bone transplantation 12 weeks later. **Conclusion** The bone formation ability of the compound of heterogenous inorganic bone and red bone marrow is obviously superior to heterogenous inorganic bone and similar to autogenous bone.

【Key Words】 Bone grafting; Transplantation, heterologous; Bone defect

本实验应用异种无机骨、复合骨髓的异种无机骨以及自体皮质骨修复兔桡骨节段性骨缺损, 比较这些移植物的成骨能力和局部组织学反应, 提出成骨能力较强的骨移植材料, 为临床应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物和分组 健康 6 月龄纯系新西兰大白兔 22 只, 体重 2.0~3.0kg。根据移植物的不同, 随机分自体皮质骨组, 单纯异种无机骨组, 复合骨髓的异种无机骨组和空白对照组。取 20 只大白兔, 左侧桡骨缺损均植入无机骨骨髓复合

物 (20 肢), 10 只右侧植入自体皮质骨 (10 肢), 另 10 只植入单纯无机骨 (10 肢)。2 只为空白对照 (4 肢)。

1.2 异种无机骨的制备和自体骨髓的复合方法 取新鲜人尸体松质骨, 彻底清除软组织及骨膜, 切成 2cm × 0.5cm × 0.5cm 的长条, 用 0.25mol 的 NaOH 浸泡 48 小时, 蒸馏水冲洗, 再用 30% 的 H₂O₂ 浸泡 24 小时, 再次蒸馏水冲洗, 丙酮浸泡 2 小时, 冲洗后置于无水乙醇中浸泡备用, 用前行高压灭菌。手术时, 将异种无机骨块置于“套筒”中, 于兔胫骨上端用 16 号骨穿针抽取 2ml 红骨髓, 滴入其中, 浸泡。

1.3 动物模型制作 1%戊巴比妥钠按 3ml/kg 体重于耳缘静脉注射实行全麻醉,麻醉生效后,取上肢前外侧切口,用电锯在桡骨中段完整截取 1.5cm 长度的骨块(包含骨膜),用骨蜡封闭断端的髓腔。植入上述各组植入物。

1.4 观察指标 分别于 2、4、6、8 周各处死 4 只(其中含自体皮质骨组和单纯异种无机骨组织各 2 只),12 周处死 6 只(含 2 只空白对照)。立即拍 X 线片并制备组织标本,HE 染色进行光镜观察。

2 结果

2.1 X 线观察 空白对照组 12 周内可见截骨两端周围少量骨痂影,截骨区域大部分呈软组织影。自体皮质骨组 2~4 周,骨痂跨越连接处,形成骨桥,连接处为低密度带。6 周,植入物中部相当于髓腔部位密度略高。8 周,形成髓腔,未贯通。12 周,髓腔再通,整个形态与原宿主皮质骨基本一致。单纯异种无机骨组,植入当时表现为网孔状高密度影,植入物与宿主骨的界面显示为清晰的透光带。2 周时,透光带消失。但直至 12 周,植入物仍然与宿主骨的影像不同,很容易将其完全区分开。复合骨髓的异种无机骨组 2 周时透光带消失,植入物周边形成骨痂,其平均厚度随时间而改变,6~8 周最大,12 周时减少。6 周时植入物变得较为光滑,网孔逐渐消失,呈致密影。8~12 周时,表现为两边密度高,中间部分密度低。

2.2 组织学观察 空白对照组,截骨处宿主骨断端有小梁骨,其余区域为纤维组织和嵌入的骨骼肌。自体皮质骨组 2~6 周,断端骨小梁成唇样包绕植入物,并与之相连,呈“潮标”状(一侧为新生骨小梁,一侧为骨细胞全部死亡的植入物)向植入物中心侵犯(图 1)。血管内生数量由边缘向内逐渐增多。血管周围有新骨形成。8 周,死骨替代完毕,板层骨形成,中心区域有一条较长髓腔和许多小髓腔,但未互相贯通。12 周,形成髓腔和皮质骨。单纯异种无机骨组 2~8 周,植骨周围骨小梁从周边向无机骨软骨内成骨,进展极慢。无机骨间隙中充满纤维组织(图 2)。12 周,传导进展仍不明显。少数中心区域孔隙内有新骨形成,量少。血管内生增加。复合骨髓的异种无机骨组 2 周,断端骨痂骨小梁呈唇样包绕植入物,从皮质骨截骨端进入植入物的多孔端。无机骨网孔间有新骨形成迹象。4 周,植入物内新骨形成,无机骨吸收,两者量相当。高倍镜见植入物所有的孔隙含有网织骨,与无机骨壁直接接触。6 周,新骨量多于无机骨量,骨髓样组织形成。8 周,整个植入物中可见均一丰富的新骨形成,呈现骨小梁样结构,无机骨大部分吸收(图 3)。12 周,髓腔形成,重建皮质骨。

3 讨论

本实验截骨长度为 1.5cm,普遍用于制作兔桡骨骨缺损模型。我们同时采取了切除骨外膜及封闭髓腔的方法,这是考虑到骨外膜也能提供成骨细胞而成骨,用骨蜡封闭髓腔后排除骨断端骨髓流入骨缺损处对成骨的影响,使本实验能更

好地单独观察注射骨髓的成骨能力,并且髓腔的封闭也更接近于临床骨不连的实际情况。

经系列脱脂、脱蛋白处理后制备的异种无机骨(人对兔),失去了有机成分,形成多孔状的羟基磷灰石支架,保持原骨的小梁骨、小梁间隙及骨内微管系统^[1]。从实验中可以看出,异种无机骨不引起排斥反应^[2],纤维组织和血管很快进入无机骨孔隙中。异种无机骨具有孔径大和孔隙率高的三维网状结构,植入缺损处,一方面可排除肌肉嵌插的不利影响,隔离了外周环境对修复的破坏;另一方面,有利于细胞营养成分的渗入和细胞代谢物的排出,利于周围血管组织的长入。我们通过组织切片观察到早期血管和纤维组织即长入无机骨的多孔结构中,同时边缘有缓慢的骨爬行替代,这个过程在 12 周内无明显变化。这说明,异种无机骨的骨诱导能力基本消失,其成骨主要是依赖于骨传导作用。与骨形成和骨诱导相比,骨传导是个极慢的过程,以年月计算。

复合骨髓的异种无机骨植入后 8 周,X 线示骨髓腔已基本贯通,光镜下见完全成熟的骨组织,证明骨髓已着床于移植骨并且分化成骨。这说明无机骨具有良好的组织相容性,降解性良好,它的多孔结构有利于骨髓基质细胞着床、增殖、分化及成骨^[3]。

我们植入的皮质骨,是截骨后立即回植的,而且保留有骨膜成分,未脱离原来的局部环境,这样有利于血管的长入和新骨的形成。我们认为,在自体皮质骨的成骨过程中,“潮标”状的爬行替代是骨诱导、骨直接形成和骨传导等共同作用的结果。自体骨中存在的骨诱导因子和随血管内生而进入的骨髓间质细胞所进行的诱导成骨是主要的成骨方式,植骨中心区域的大量血管内生和血管周围新骨形成证明了这一点。当然,骨表面存活下来的成骨细胞的直接骨形成也是一种成骨方式,可能在植入物与宿主骨断端骨小梁的快速连接上发挥重要作用。

异种无机骨复合骨髓后其成骨能力明显提高,相当于(甚至可能好于)自体皮质骨移植。8 周时表现为死骨替代完全,12 周形成髓腔。只是本实验采用的异种无机骨是由松质骨制备,尚需较长时间的塑形改造期。如用自体松质骨作比较,则更有意义。

总之,异种无机骨复合骨髓后,成骨能力与自体皮质骨相当,明显优于单纯无机骨。本实验为复合骨髓的异种无机骨的临床应用奠定了基础。

(本文图 1~3 见插页 1)

参考文献

- 1 Salama R. Xenogeneic bone grafting in humans. Clin Orthop, 1983, 174(4): 113.
- 2 王金成,陈伟,刘光耀,等.骨库骨的抗原性比较研究.中国骨伤, 2001, 14(9): 533.
- 3 王金成,高忠礼,段德生,等.带蒂肌瓣包裹异种无机骨与自体红骨髓复合物的实验研究.中国修复重建外科杂志, 2001, 15(6): 360.

(收稿 2002-01-23 编辑:李为农)

复合型完全脱蛋白骨的细胞相容性研究

(正文见 597 页)

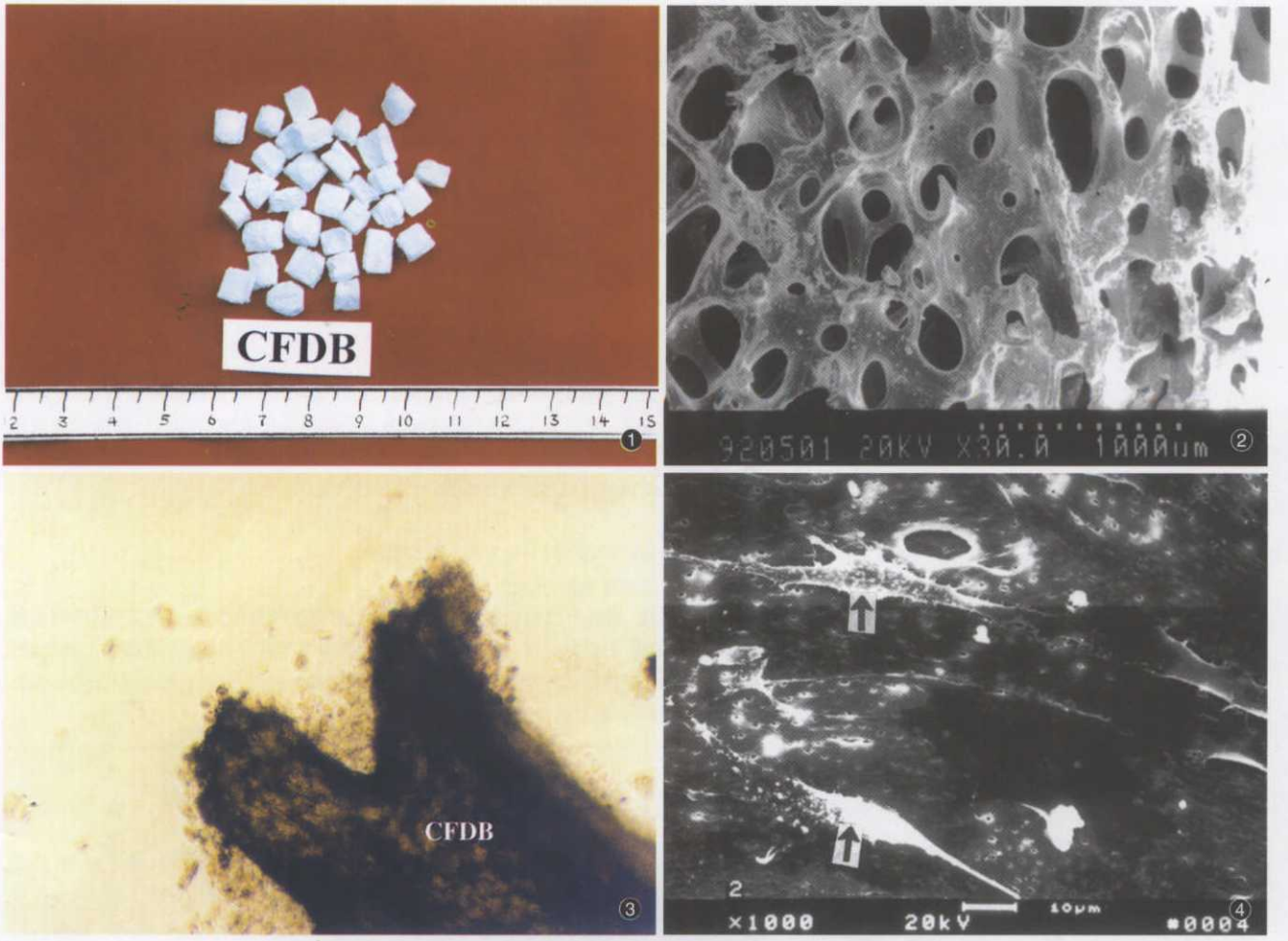


图1 复合型完全脱蛋白骨(CFDB) 图2 CFDB材料的天然网状孔隙结构、网隙彼此通连(SEM × 30) 图3 CFDB与成骨细胞复合培养1周 可见很多团簇状细胞附于CFDB边缘(相差显微镜× 100) 图4 CFDB与成骨细胞复合培养2周, 附于CFDB材料上的梭形细胞(箭头示) 细胞表面见有钙颗粒沉着(SEM × 1000)

三种移植骨材料修复骨缺损能力的比较研究

(正文见 600 页)



图1 自体皮质骨植入后6周 截骨端骨小梁新骨爬行替代植入物, 形成“潮标”(SEM × 10) 图2 单纯异种无机骨植入后6周 截骨端骨小梁向无机骨内传导, 无机骨孔隙中充满纤维组织(SEM × 4) 图3 复合骨髓的异种无机骨植入后6周 新骨量多于无机骨量、骨髓样组织形成(SEM × 4)