

BMP/PCC 人工骨修复长骨大段缺损的实验研究

石晓兵 梁克玉

(湖北中医学院附属医院, 湖北 武汉 430061)

【摘要】 目的 研制理想的、能较快修复大段骨缺损的人工骨材料。方法 将骨形态发生蛋白(BMP)和多孔复合陶瓷(PCC)结合研制成 BMP/PCC 人工骨,并将 BMP/PCC 和 PCC 人工骨进行兔桡骨大段骨缺损修复的对比研究。术后 2、4、8 和 12 周时取材,分别作大体、组织形态学、新骨形成定量分析及生物力学测试。结果 BMP/PCC 人工骨内新骨形成量明显多于 PCC 人工骨。术后 12 周时, BMP/PCC 侧植入部位的抗折强度明显高于 PCC 侧。结论 BMP/PCC 人工骨能更快促进长骨大段骨缺损的修复,是一种较理想的人工骨材料。

【关键词】 骨和骨组织; 骨移植; 生物力学

Experimental study of BMP/PCC artificial bone for the repair of limb defect SHI Xiaobing, LIANG Keyu. *The Affiliated Hospital of Hubei TCM College(Hubei Wuhan, 430061)*

【Abstract】 Objective To design an ideal artificial bone material for rapid repair of segmental defect of long bones **Methods** Bone Morphogenetic Protein(BMP) and Porous Complex Ceramic(PCC) were combined to BMP/PCC artificial bone and then compared with PCC artificial bone on the prosthetic study of stage defect of rabbit radius. Specimens were procured at 2, 4, 8 and 12 weeks after operation and gross morphology were studied and bone formation quantity analysis and biomechanics test were performed. **Results** Bone formation of BMP/PCC artificial bone were significantly higher than that of PCC group. The intensity of resisting bend of BMP/PCC implant group were higher than PCC group. **Conclusion** The BMP/PCC artificial bone is able to promote early repair of long bone defect and is an ideal artificial bone.

【Key words】 Bone and bones; Bone transplantation; Biomechanics

修复长骨大段骨缺损一直是骨科领域中亟待解决的难题。为了寻找修复长骨大段骨缺损的较理想骨替代材料,本实验将具有良好生物学性能和骨传导作用的多孔复合陶瓷(PCC)同具有骨诱导能力的骨形态发生蛋白(BMP)结合在一起^[1,2],制成 BMP/PCC 人工骨材料,并进行了修复长骨大段骨缺损的实验,以期将其尽快应用于临床。

1 材料与方 法

1.1 BMP/PCC 人工骨的制备 与武汉理工大学合作研制的 PCC 材料呈白色多孔状结构,孔道彼此连通,平均孔径 373 μ m,气孔率 48.4%,抗折强度 10.3MPa,经一系列实验显示材料具有良好的生物相容性和生物降解性^[3]。将 PCC 制成长 10mm、直径 4mm、中央管直径 1mm 的园柱体。根据已报道的方法^[4]从新鲜猪骨长骨中提取部分纯化的猪 BMP。利用部分真空吸入法^[3]将 BMP 和 PCC 结合在一起,制成 BMP/PCC 人工骨,每支人工骨中约含 BMP 6~8mg。在扫描电镜下观察人工骨中心断面,见 BMP 呈网状均匀分布在 PCC 孔隙中。将 BMP/PCC 人工骨密封包装,环氧乙烷气体消毒 24 小时后在 -20℃ 条件下贮存备用。

1.2 BMP/PCC 人工骨修复长骨大段骨缺损试验

1.2.1 实验动物及手术过程 取健康新西兰兔 28 只,雌雄不限,体重 2.0~2.2kg。2% 异戊巴比妥钠麻醉,双侧前肢剃毛、消毒,取外侧切口切开皮肤及皮下组织,显露桡骨中段,用单片小锯锯下 10mm 连带骨膜骨段,造成桡骨干 10mm 缺损,用生理盐水反复冲洗创腔清除骨屑。左侧植入 BMP/PCC 人工骨,右侧植入已消毒的同样规格 PCC 人工骨,逐层缝合伤口,术后伤口不盖敷料,肢体不作外固定。

1.2.2 观察指标 (1) 大体观察:术后观察动物的饮食、活动及伤口反应等。(2) 组织学观察:术后 2、4、8 和 12 周时,将植入材料连同附近骨段一并取出,10% 福尔马林固定、脱钙,将植入材料横断切开后逐级酒精脱水,石蜡包埋切片,HE 染色及苏木素-亮绿-番红花“O”染色,光镜下观察。(3) 新骨形成面积定量分析:分别于术后 2、4、8 和 12 周时,随机从实验侧和对照侧标本中各取组织学切片 12 张,通过 Leitz ASM 68K 计算机图像分析仪测量材料内的新骨形成面积,并按一定方法计算出材料内部新骨面积的相对百分比,作统计学分析(t 检验),以观察植入材料的成骨情况。(4) 生物力学测试,

术后 12 周时,取实验侧、对照侧整个桡骨及正常桡骨标本作力学强度测试。除净标本软组织和骨膜,在 MTS 陶瓷试验系统上用三点弯曲法进行测量,跨距为 30mm,加载速度为 0.5mm/min,以测定其最大抗折载荷,对所获三组数据进行对比并作统计学处理(F 检验)。

2 结果

2.1 大体观察 术后动物前肢不能负重,跛行,术后 1 周左右恢复正常活动。所有动物切口均 I 期愈合,切口未见感染、破溃及分泌物。

2.2 组织学观察结果 术后 2 周时,BMP/PCC 材料外周有新骨形成,材料与新骨直接结合,材料内部孔隙中有纤维结缔组织和间充质细胞进入。PCC 材料外周为纤维结缔组织包裹,偶见炎性细胞浸润,材料内部有纤维结缔组织填充。术后 4 周时,BMP/PCC 材料外周新骨形成明显增多,内部孔隙中有新骨小梁形成,同时仍可见纤维结缔组织和间充质细胞充填其间,材料两端中央管处也有新骨形成。PCC 材料内部孔隙中纤维结缔组织增多,近骨端材料外周有新骨形成,材料中段处切片中见材料外周无新骨形成。术后 8 周时,BMP/PCC 材料内、外新骨继续增多,中央管中段处切片上可见初级骨小梁形成。PCC 材料外周新骨增多,内部孔隙中有少量骨小梁形成,中央管中段处切片上仅见纤维结缔组织和新生血管,无新骨形成。术后 12 周时,BMP/PCC 材料内孔隙中有大量板层骨形成,中央区有较多新骨,材料发生部分降解,被新骨替代,材料与新骨直接接触。PCC 材料内部有少量板层骨形成,中央区新骨形成极少,孔隙中仍有少量纤维结缔组织存在。

2.3 新骨形成定量分析结果 从表 1 中可以看出,两侧植入物新骨形成量随时间的延长逐渐增多,在 2、4、8 和 12 周时,BMP/PCC 侧材料内新骨形成量均多于 PCC 侧,统计学分析有显著性差异($P < 0.01$)。

表 1 BMP/PCC 侧与 PCC 侧植入物内新骨形成量的比较($\bar{x} \pm s$)

时间(周)	BMP/PCC 侧	PCC 侧	P 值
2(n=7)	14.35±1.24	8.76±1.68	< 0.01
4(n=7)	21.57±2.31	12.43±1.75	< 0.01
8(n=7)	27.65±2.93	16.84±1.32	< 0.01
12(n=7)	42.79±2.63	26.04±2.41	< 0.01

注:表内数据为植入物内部新骨形成量的相对百分比(%)

2.4 生物力学测试结果 术后 12 周时,BMP/PCC 侧、PCC 侧植入材料和正常桡骨的平均抗折强度分别为 19.32±0.75MPa、13.41±0.63MPa 和 20.08±0.68MPa,BMP/PCC 材料的抗折强度与正常桡骨相比非常接近,统计学分析无显著性差异($P > 0.05$),且二者的抗折强度均明显高于 PCC 材料的抗折强度,统计学分析有非常显著性的差异($P < 0.01$)

3 讨论

多孔陶瓷材料以钙、磷为主要成分,与骨基质中的无机成分相似,大量实验证明它具有良好的生物相容性和降解性,植入骨缺损区后能为新骨的生长提供支架从而修复骨缺损,具有骨传导作用,但无骨诱导能力。自 80 年代中期开始,Urist 等相继将 BMP 和一些起载体作用的无机材料结合应用,结果

表明二者结合能明显加快骨缺损的修复^[3,5,6]。

为了使 PCC 具有骨诱导活性,提高其修复骨缺损的能力,我们将 PCC 和具有骨诱导能力的 BMP 结合,制成 BMP/PCC 人工骨,并将其进行了修复兔桡骨大段缺损的实验。结果显示,BMP/PCC 复合型人工骨材料在新骨形成量、生物力学强度等方面均明显优于单纯的 PCC 人工骨材料,能加快长骨大段缺损的修复过程。

BMP/PCC 材料中新骨的形成量明显多于 PCC 材料,这主要是 BMP/PCC 材料中 BMP 的骨诱导作用所致。BMP 作用的靶细胞主要有两种,一种是血管周围未分化、但有分化潜能的间充质细胞,它们可随宿主床新生血管一同进入材料内部。另一种是骨髓基质中未分化的间充质细胞即诱导性骨祖细胞(IOPC),它对 BMP 的敏感性远高于其它部位的间充质细胞,被诱导成骨的能力也最强。在 BMP 的诱导作用下,间充质细胞定向分化成软骨细胞和成骨细胞进而形成软骨和骨。同时,骨髓中存在的定向分化骨祖细胞(DOPC)也能沿中央管进入材料孔隙中自身繁殖、分化、生成新骨。另外,PCC 材料充当了 BMP 的缓释系统,提高了 BMP 的诱导成骨效率,促进了新骨的形成^[7,8]。在 PCC 材料中因无骨诱导物质 BMP 存在,故不能诱导未分化的间充质细胞分化成骨,只能依赖骨缺损两端的爬行替代和 DOPC 的生长成骨,故导致其新骨生成量远少于 BMP/PCC 材料。

我们研制的 BMP/PCC 人工骨材料具有良好的生物相容性和力学强度,材料内部有合适的孔径和气孔率,且有中央管存在,使得新骨组织不仅能从材料表面向内部生长,还能以中央管为中心自内向外生长,两个方向生长的新骨组织最终桥接交联,并与材料紧密结合,形成一种嵌合结构,从而克服了 PCC 材料降解时生物力学下降的缺点。随着时间的延长,新骨组织增多,BMP/PCC 的机械强度在动态发展过程中不仅没有下降,反而不断得到加强,并最终被新骨组织完全替代。是一种较理想的修复长骨大段缺损的骨移植替代材料,具有较高的临床实用价值。

参考文献

- Lavernia C, Schoenung J. Calcium phosphate ceramics as bone substitutes. *Ceramic Bulletin*, 1991, 70:95-100.
- Ijiri S, Nakamura T, Fujidawa Y, et al. Ectopic bone induction in porous apatite/wollastonite containing glass ceramic combined with bone morphogenetic protein. *J Biomed Mater Res*, 1997, 35: 421-432.
- 孙淑珍, 黄学辉, 郭江新, 等. BMP/多孔复合陶瓷人工骨材料的研制. *武汉工业大学学报*, 1995, 17: 22-25.
- 胡晓波, 夏筠, 李群, 等. 骨诱导性载体复合骨形态发生蛋白的双重成骨作用. *中华骨科杂志*, 1998, 18(2): 80-83.
- Rawlings CE. Modern bone substitutes with emphasis on calcium phosphate ceramics and osteoinductors. *Neurosurgery*, 1993, 33: 935-938.
- 谭祖键, 李起鸿, 许建中, 等. 聚乳酸作为骨形态发生蛋白载体修复骨缺损的实验研究. *中华骨科杂志*, 2000, 20(12): 742-746.
- 吴祖尧. 骨形态发生蛋白的最新进展. *中华骨科杂志*, 1991, 11(3): 211-215.
- 梁戈, 胡蕴玉, 郑昌琼, 等. 多孔 β -TCP/BMP 复合人工骨的研制和动物体内的相关研究. *中华骨科杂志*, 1998, 18(2): 75-80.

(收稿: 2001-06-13 编辑: 李为农)