

· 论 著 ·

注射式复合纳米人工骨的生物相容性和降解性能的实验研究

葛 亮^{1*}, 苟三怀¹, 杨四川², 汪世龙²

(1. 第二军医大学长征医院骨科, 上海 200003; 2. 同济大学生命科学与技术学院, 上海 200092)

[摘要] 目的: 观察新型可注射式纳米羟基磷灰石(r-HA)/半水硫酸钙(CSH)人工骨体外细胞毒性和家兔体内埋植后组织反应以及降解性能, 并探讨其可能的生物降解机制。方法: 对纯 CSH、纯 r-HA 、10% $\text{r-HA} + \text{CSH}$ 、20% $\text{r-HA} + \text{CSH}$ 和 40% $\text{r-HA} + \text{CSH}$ 复合材料共 5 种材料进行体外 MTT 细胞毒性试验。将 20% $\text{r-HA} + \text{CSH}$ 人工骨植入家兔肌肉和右侧股骨钻孔缺损内, 分别在术后 5 d 及 2、3、4、5、6、8、12 周观察埋植后家兔的一般情况、复合材料的改变情况、肌肉组织病理和透射电镜表现以及骨组织病理和影像学变化。结果: 培养细胞在 5 种材料浸提液中各自的平均细胞增殖率均在 77% 以上, 细胞毒性均为 0~1 级。20% $\text{r-HA} + \text{CSH}$ 复合材料在动物体内埋植后无全身反应, 体质量均稳步增加。埋植区肌肉组织大体观察发现, 术后 5 d 至 8 周复合材料从表面-主体-核心以分层方式降解, 术后 8 周时复合材料基本降解, 肌肉未出现纤维化、钙化或异位骨化。H-E 染色可见降解过程初期散乱的人工骨材料为大量炎性细胞浸润、包绕, 逐渐被分解为碎片, 成纤维细胞逐渐转化为纤维细胞并包绕吞噬前期分解的材料碎片。电镜显示该降解由组织细胞吞噬反应介导, 而且吞噬细胞并未出现胞膜损害和细胞器异常。右侧股骨骨组织影像学和病理学检查发现术后 6 周见缺损处松质骨内明显新生骨形成, 8~12 周人工骨完全降解, 缺损处已具有正常骨小梁形态。结论: 20% $\text{r-HA} + \text{CSH}$ 复合材料人工骨无明显体外细胞毒性, 生物相容性良好; 动物体内降解可能是由组织细胞吞噬反应介导以分层方式降解, 骨内 8~12 周完全降解, 速度符合骨再生需要, 具备很好的成骨活性。

[关键词] 注射; 纳米技术; 羟基磷灰石; 硫酸钙; 人工骨; 生物相容性; 降解

[中图分类号] R 318.17 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2006)10-1121-06

Biocompatibility and degradation of an injectable nano-sized composite bone substitute

GE Liang^{1*}, GOU San-huai¹, YANG Si-chuan², WANG Shi-long² (1. Department of Orthopedics, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China; 2. College of Bio-science and Technology, Tongji University, Shanghai 200092)

[ABSTRACT] **Objective:** To evaluate the *in vitro* cytotoxicity, *in vivo* response and degradation of a new injectable nano-hydroxyapatite(r-HA)/calcium sulphate hemihydrate(CSH) bone substitute in rabbits and to discuss its possible bio-degeneration mechanism. **Methods:** Pure CSH, r-HA , 10% $\text{r-HA} + \text{CSH}$, 20% $\text{r-HA} + \text{CSH}$, and 40% $\text{r-HA} + \text{CSH}$ (the last 3 containing 10%, 20%, and 40% r-HA , respectively) were subjected to MTT assay for their *in vitro* cytotoxicities. 20% $\text{r-HA} + \text{CSH}$ was implanted into rabbits' muscle and bone defects in the right femur, and the general conditions of rabbits, the pathological and TEM manifestations of tissues, and the imaging alterations were all observed 5 days, 2, 3, 4, 6, 8, and 12 weeks after implantation. **Results:** Test of cytotoxicity showed that the average cell proliferation rate was over 77% after treated with the solutions of 5 bone substitutes ($P < 0.05$), with the cytotoxicity being 0-1 (non-toxic). No general reaction was found in rabbits implanted with 20% $\text{r-HA} + \text{CSH}$ and the weight of animals increased steadily. 20% $\text{r-HA} + \text{CSH}$ implanted in the muscle underwent a layer-by-layer degradation from 5 days after implantation and was almost completely degraded after 8 weeks, with no fibrosis, calcification or ectopic ossification. H-E staining showed that at the early stage the degraded materials were surrounded and wrapped by inflammatory cells; the fibroblasts gradually turned into fibrous cells encircling the degraded material. TEM observations indicated that the degradation was characterized by a cytophagic process and no cytotoxic signs were found in the phagocytes after phagocytosis. X-ray examination showed new osteoid and premature trabeculae scattered over the defective region 6 weeks after implantation, and there was normal trabecular tissue 8-12 weeks later. **Conclusion:** 20% $\text{r-HA} + \text{CSH}$ has no obvious *in vitro* cytotoxicity, but has good biocompatibility. The *in vivo* degradation of 20% $\text{r-HA} + \text{CSH}$ may be mediated by cytophagic process in a layer-by-layer manner. It degrades completely within 8-12 weeks, which is suitable for bone regeneration.

[KEY WORDS] injections; nanotechnology; hydroxyapatites; calcium sulphate; bone substitute; biocompatibility; bioabsorption

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2006, 27(10): 1121-1126]

各种原因造成的顽固性骨缺损是目前临床上的一大难题, 人工骨材料在其修复治疗中正起着日益

[作者简介] 葛亮, 博士生, 主治医师。

* Corresponding author. E-mail: geliang76@126.com

重要的作用。传统人工骨一般需在体外预制成型,经手术植入体内,往往带来额外创伤和并发症风险。近年来出现的可注射人工骨因微创、高效的优点,正日益受到人们的重视。纳米级羟基磷灰石($n\text{-HA}$)作为一种骨修复材料,已被证实较普通微米级 HA 有最佳的成骨活性^[1,2]。但其固型性能不理想,不太适合于注射使用,即使应用也需很长时间方可降解吸收。半水硫酸钙($2\text{CaSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, CSH)是一种优良的自固化填充物,用于骨缺损修复已有很长时间,将其与 $n\text{-HA}$ 有机复合,可获得一种注射与塑型性能均十分良好的人工骨支架材料。本研究预实验结果发现复合材料 HA 含量达 40%左右时其注射性能不如人意,含量低于 10%时则失去了明显的复合优势,20%的质量配合比在注射性能及凝固时间乃至机械强度等方面都相对较合适。为了考察它的生物相容性和动物体内的降解特点,本研究对该人工骨进行了细胞毒性试验和家兔肌肉内、骨钻孔内埋植实验,并通过病理学、影像学手段对材料的生物降解机制加以探讨,以了解其实际应用的科学性和可行性。

1 材料和方法

1.1 实验材料 实验用复合人工骨主要由 $n\text{-HA}$ 晶体(自行合成)及半水结晶硫酸钙(CSH, Sigma 公司)构成。其中 $n\text{-HA}$ 晶体以共沉淀法(140)合成,经透射电镜证实为棒状(图 1),直径 10~20 nm,平均长度 69.5 nm(LS230 型粒度仪,美国贝克曼库特公司)。材料以 γ 射线(剂量 250 kGy)照射灭菌。体外细胞毒性试验和家兔肌肉内埋植实验采用固化成型的圆柱状样品(截面直径 5 mm、高 3.5 mm)。骨钻孔模型采用注射剂型,以磷酸盐缓冲液作固化液,二水硫酸钙为促凝剂,液固比 0.8(g/ml)。共设 3 组复合物样品,分别是 10% $n\text{-HA}$ + CSH、20% $n\text{-HA}$ + CSH 和 40% $n\text{-HA}$ + CSH, HA 含量(质量分数)分别为 10%、20%和 40%。另设 2 种对照材料,分别为纯 $n\text{-HA}$ 和 CSH。

1.2 MTT 细胞毒性试验 选择 293T 细胞株(上海同济大学生命科学院提供),为传代 48~72 h 生长旺盛的细胞。所用 MTT[溴化-3-(4,5 二甲基噻唑-2)-2,5 二苯基四唑]购自 Sigma 公司。事先将 3 组复合材料(10% $n\text{-HA}$ + CSH、20% $n\text{-HA}$ + CSH 和 40% $n\text{-HA}$ + CSH)、纯 $n\text{-HA}$ 和纯 CSH 在模拟体液(simulated body fluid, SBF)中浸泡 2 周,浸取液按 100%、50%、10% 浓度稀释,以细胞培养液作阴性对照。用含 10% (体积分数)小牛血清的

DMEM(dulbecco's modified eagle medium)培养基配制 $3 \times 10^5/\text{ml}$ 的细胞悬液,以 $2.5 \times 10^4/\text{孔}$ 的浓度接种于 96 孔板中,每孔体积 200 μl ,再分别加入 20 μl 不同浓度的 SBF 浸泡液。置 37 $^\circ\text{C}$ 、5% CO_2 细胞培养箱中培养 72 h 后,再于每孔加入 5 mg/ml MTT 20 μl ,37 $^\circ\text{C}$ 下培养 4 h,吸除培养液,加入二甲基亚砷(DMSO)150 μl ,震荡 30 min。用 ELX800uv 型酶标仪(BIO-TEK 公司,由上海同济大学生命科学院提供)测其光密度值(D_{490} 值)。重复测定 3 次,实验组 D_{490} 值除以阴性对照组 D_{490} 值的百分率即为细胞增殖率(RGR),最后转化为相应的细胞毒性等级,标准为:0 级为 RGR 100%;1 级为 75%~99%;2 级为 50%~74%;3 级为 25%~49%;4 级为 1%~24%;增殖率 0 者为 5 级。

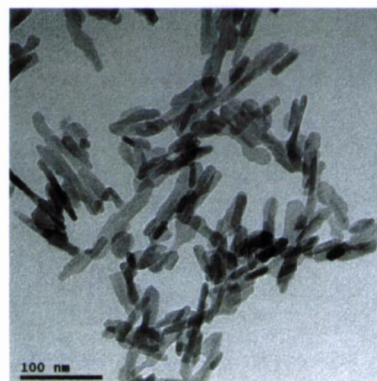


图 1 共沉淀法合成的 $n\text{-HA}$ 晶体形貌

Fig 1 Transmission electron microscopic image of $n\text{-HA}$ crystals prepared by co-deposition method($\times 400\ 000$)

1.3 家兔肌肉和骨内埋植 20% $n\text{-HA}$ + CSH 复合材料 选取健康成年新西兰大耳白兔 20 只(第二军医大学实验动物中心提供),雌雄各半,体质量 2.3~2.5 kg,无体表病损,骨骺已闭合。随机分为 8 组,分别在术后 5 d 及 2、3、4、5、6、8、12 周进行观察,其中术后 5 d 及 2、3、5 周组各 2 只,术后 4、6、8、12 周组各 3 只。以 3% 戊巴比妥钠静脉麻醉后,术区常规消毒,首先沿右侧髌骨内缘切开皮肤及皮下,剥离骨膜后显露股骨内髌。定股骨远侧干骺端距髌股关节面和膝关节面各 0.5 cm 处为钻孔点,以直径 4.5 mm 钻头自内向外、垂直于股骨长轴钻通骨质(约 1.5 cm)。生理盐水冲尽骨屑后拭干。将 $n\text{-HA}$ 含量为 20% 的材料粉末用固化液调和成黏浆状,用 27# 注射针头以回退方式注满缺损空间,用吉摩尔双针法记录材料终凝时间。骨道内人工骨凝固后清除其溢出物,逐层缝合关闭切口。对侧(左侧)钻孔方式相同,但不加干预以作空白对照。骨钻孔模型

完成后将动物改为俯卧位固定,沿其背部正中作一切口,分离两侧腰背肌纤维,制成 4 个深约 1 cm 的肌袋,每个肌袋内埋 1 枚圆柱形材料(r-HA 含量为 20%)。

1.4 术后动物肌肉和骨组织的观察 术后观察动物的全身情况、进食、活动和切口表现。

1.4.1 肌肉组织的观察 各规定时间点处死动物,沿背部切口打开肌肉组织,找到剩余材料,观测外形、尺径、肌肉界面变化和周围组织反应。沿人工骨正中剖开观察断面;迅速在界面上切下一层带有材料的组织,用 10% 中性甲醛溶液固定,经脱水、包埋、H-E 染色后镜下观察;取材时另沿界面切割一薄层组织,光镜定位下截成小块,经 2% 戊二醛前固定、1% 锇酸固定、脱水、聚合、超薄切片和染色后于透射电镜下观察(JEOL1230 型,由同济大学生命科学院提供)。

1.4.2 骨组织观察 肌肉标本取材完成后截取两侧股骨远端骨组织(右侧实验侧,左侧对照侧),剔净软组织后以 10% 中性缓冲甲醛溶液固定,经丙酮梯度脱水、塑料包埋,硬组织切片(Leica1600 型切片,由上海第六人民医院提供)、H-E 染色后镜下观察。于手术结束即刻、术后 2、4、6、8、12 周时摄动物双膝关节正、侧位片。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 10.0 统计软件包,组间比较行配对的 t 检验。

2 结果

2.1 实验材料体外细胞毒性的观察 5 种材料样品的平均细胞增殖率均在 77% 以上,细胞毒性均为 0~1 级,各浸提液浓度下,各样品组分别与阴性对照组无显著差异(表 1)。

2.2 术后动物一般情况 20% HA + CSH 复合材料在骨内的凝固时间在 9~12 min 之间。所有动物术后均正常苏醒,迅速恢复正常进食。术后 3 d 内动物切口略红肿,此后自然消退。2 只动物分别出现切口部分裂开,1 只系咬断下肢 1 处缝合所致,另 1 只为背部缝合断开 1 处,均无任何渗出及感染,及时清创缝合后正常愈合。所有动物体温、活动、粪便均正常,体质量稳步增加。

2.3 术后肌肉埋植区组织观察

2.3.1 大体病理 术后 5 d 取材时见埋植区无渗出。人工骨材料的棱角稍钝,表面薄层变为黏稠浆状,主体及核心部分仍坚硬。周围肌肉未见明显水肿、无坏死、淤血及化脓,接触材料的肌肉界面上生成一菲薄的界膜。2 周时切口已愈合。深部各层无

水肿,数枚人工骨基本仍呈药丸状外观,但棱角进一步圆钝。材料与周围肌肉组织完全融合一体,界膜已不明显。剖开后见材料外层与组织交界部为薄层黏稠物,主体仍为有型固体。术后 3 周,人工骨外形已接近球形,直径约 3 mm。4 周时材料已呈面团样不规则性状,但存在直径约 1.5 mm 的固体核心。5 周时残余人工骨基本呈黏稠浆状,截面积约 1.5 mm × 2 mm,无固体核心。6 周时约半数材料已消失,部分残存者为直径 1~1.5 mm 的浓浆状物。8 周时所有材料均无法找到。肌肉未出现纤维化、钙化或异位骨化。

表 1 5 种材料对不同浓度浸提液的细胞增殖率的影响和相应毒性等级

Tab 1 Cell proliferation and relevant cytotoxicity of different soaking solutions of 5 materials

Group	D_{490} ($n=3, \bar{x} \pm s$)	RGR (%)	Rank of cytotoxicity
10% soaking solution			
CSH	1.520 ± 0.228	85.7	1
r-HA	1.536 ± 0.408	86.6	1
10% HA + CSH	1.526 ± 0.316	86.0	1
20% HA + CSH	1.547 ± 0.294	87.2	1
40% HA + CSH	1.643 ± 0.335	92.6	1
Negative control	1.774 ± 0.421	100	0
50% soaking solution			
CSH	1.925 ± 0.322	97.4	1
r-HA	1.778 ± 0.294	90.0	1
10% HA + CSH	1.765 ± 0.336	89.3	1
20% HA + CSH	1.688 ± 0.375	85.4	1
40% HA + CSH	1.695 ± 0.411	85.8	1
Negative control	1.976 ± 0.358	100	0
100% soaking solution			
CSH	2.222 ± 0.303	98.4	1
r-HA	2.281 ± 0.117	101.0	0
10% HA + CSH	1.743 ± 0.302	77.2	1
20% HA + CSH	1.761 ± 0.314	78.0	1
40% HA + CSH	2.414 ± 0.256	106.9	0
Negative control	2.258 ± 0.012	100	0

RGR:Relative growth rate

2.3.2 肌肉组织 H-E 染色结果 术后 5 d 至 8 周可见典型的炎性反应及消退过程。初期可观察到肌肉与材料间存在清晰界面。散乱的人工骨材料为大量炎性细胞浸润、包绕,偶见巨噬细胞聚集。肌肉间隙内也出现广泛炎细胞浸润。从材料一侧到正常肌肉,存在鲜明的炎性反应过渡带(图 2A)。2 周以后成纤维细胞已转化为纤维细胞并围绕孤立的材料碎片,形成类似异物肉芽肿样的改变(图 2B)。此后炎症反应逐渐消退,直至材料完全降解。组织间隙内至 8~12 周时尚有少许粒细胞、淋巴细胞存在。

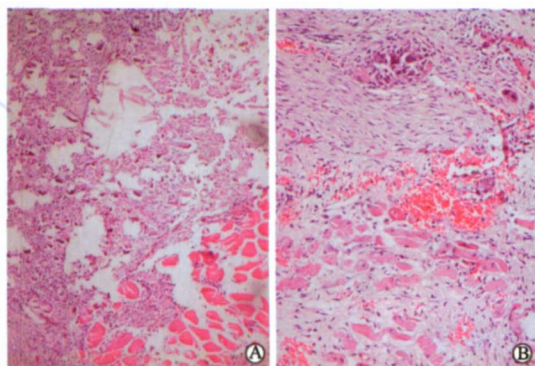


图2 术后1周(A)、2周(B)材料埋植区的肌肉组织病理照片

Fig 2 Microscopic image of muscle tissue of implantation area 1 week (A) and 2 weeks (B) after operation (HE staining, ×100)

2.3.3 肌肉透射电镜 术后早期可于电镜下见材料在界面上出现不同程度碎裂,但基本呈大块状。多个组织细胞沿大块状材料发生聚集并将其包绕。2周以后可见大块人工骨进一步分解,成团的晶体物质被吞噬细胞整体吞入。细胞形成多个大小不等的吞噬小体,将数量不等的晶体物质包涵。至4~6周时,材料已被分解为极小碎片,由吞噬小体包裹后降解(图3)。在细胞对材料接触、吞入、酶解的过程中,并未出现胞膜损害和细胞器异常。

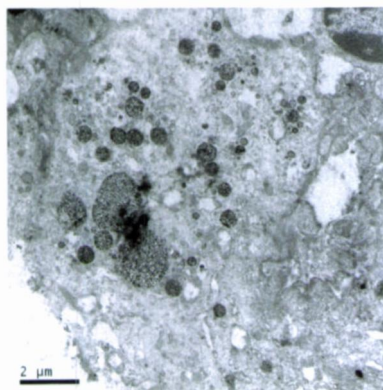


图3 术后4周材料埋植区的组织透射电镜照片

Fig 3 Scanning electron microscopic image of soft tissue from implantation area 2 weeks after operation(×10 000)

2.4 术后骨组织观察

2.4.1 不脱钙骨组织病理观察 不脱钙骨组织病理观察可见2周时实验侧(右侧)缺损完整,内为均匀无定型物质填充;4周孔道边缘骨小梁有明显钙质沉积和硬化,孔内仍为填充材料;6周时除边缘硬化外,缺损区边缘已不规则,内部出现不规则、短小

纤细的骨小梁和类骨质,其中可见暗红色钙质沉着,提示为新生骨小梁。该新生骨间杂于无定型的材料物质间,散布于缺损区的周边和中心(图4)。而对照侧(左侧)至6周时缺损范围仍完整,其中为骨髓组织所填充。8周和12周时实验侧新生骨小梁进一步增多、密集并增粗,已与周围正常骨相连,部分区域除钙质沉积致染色较深外,已具有正常骨小梁形态。此时对照侧的边缘骨小梁开始向内延伸,但大部缺损仍存在,核心部位无新生骨结构。

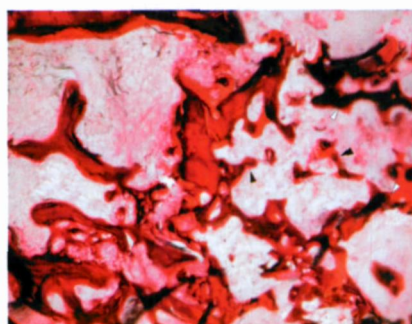


图4 材料埋植6周时的不脱钙骨组织病理照片
Fig 4 Microscopic image of undecalcified bone section from deficit region in distal femur 2 weeks after implantation (HE staining, ×40)

2.4.2 影像学观察 各时间点影像学变化如图5所示。术后即刻可见实验侧(右侧)注射人工骨处密度稍高于周围松质骨;2~6周时该区域密度有所减低,逐渐与松质骨相当,第4周时尚可见材料与周围骨质的模糊界限,骨孔周边出现硬化带。第6周时孔道已不可辨认。此阶段对照侧(左侧)孔道清晰,仍为缺损影。第8周实验侧孔道内部分区域影像减退,略低于周围骨质,其中夹杂有片状高密度骨影,而对照侧骨孔边缘稍模糊,孔内密度仍低。12周时注射人工骨侧已无缺损迹象,对照侧孔道开始部分修复。

3 讨论

近年来出现的可注射性人工骨,使临床治疗变得更为高效、微创,正成为当前的一个研究热点。注射式人工骨一般由传统成骨材料剂型转化而来。而传统材料中最重要的HA,虽在生物相容性、免疫原性和成骨活性等方面都很理想,但塑型性能较差,体内降解较慢,以往多被认为不适于注射使用^[3]。1987年Frame等^[4]尝试将HA与CSH复合以改善单一HA材料注射性能不佳的缺点。CSH本身就是一种良好的骨引导材料,自身虽无骨诱导活性,但在骨膜存在下有成骨效应。目前国外开发的注射型

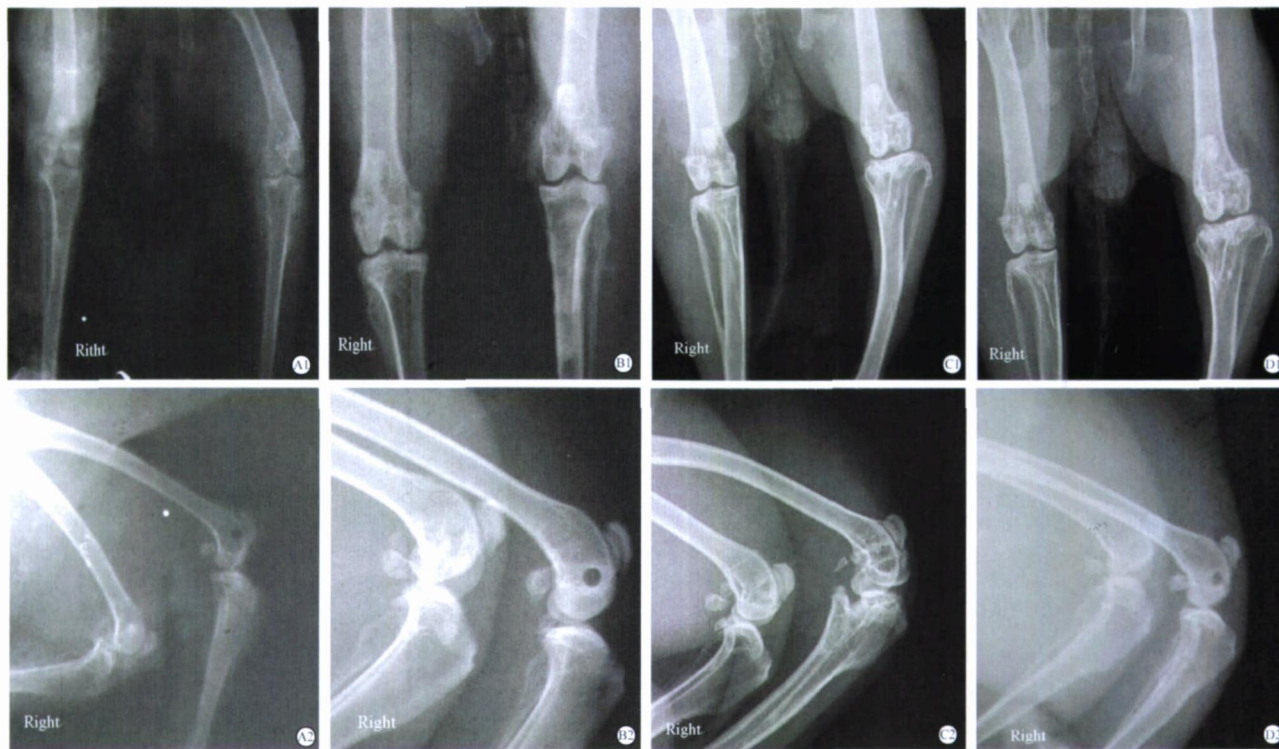


图 5 骨内埋植后不同时间的家兔双膝关节正侧位片

Fig 5 Xray images (A-P and lateral view) of rabbit knees at different time points after material implantation

A1-D1: A-P view; A2-D2: Lateral view. A1, A2: Right after operation; B1, B2: 4 weeks later; C1, C2: 8 weeks later; D1, D2: 12 weeks later

CSH 已在创伤、脊柱外科等领域获得了广泛的应用和良好的效果^[5,6]。Frame 等^[4]发现,两材料复合用于犬下颌骨缺损修复,获得了协同的成骨活性:这种复合材料不仅塑型性和充填性满意,其成骨性能甚至与 HA + 自体骨相当。Sato 等^[7]将这种复合物注射于兔胫骨骨髓内,4 周后即见新骨形成,8 周已十分明显。还有实验证明 CSF/HA 复合人工骨具有良好的微孔性^[8],是各种蛋白药物的合适载体。国内虽已有相关材料学的研究^[9],但尚未开展实际的生物学实验研究。目前,国内外在有关领域研究中使用的均为普通微米级 HA,存在不少缺陷。近年来已证实 n-HA 因晶体尺度与天然骨接近,具有更好的理化及生物学性能^[1,2]。本研究将 n-HA 和 CSH 复合构建的可注射材料,基于纳米晶体独特的表、界面效应,期望获得更佳的治疗效果。为考察其生物相容性和降解特征,本研究通过体内、外两方面途径进行。

MTT 细胞毒性试验是材料生物安全性评价诸多标准中最重要、最常用的方法之一,是各种产品投入临床前必行的检测^[10]。它的优点是可短期内检出受试品对细胞新陈代谢的影响,对毒性物质有较高的敏感性,并能快速筛选批量样品。本研究对纯 CSH、纯 n-HA 和 3 种不同 HA 含量的复合材料均

进行了不同浓度浸提液的细胞增殖率的测定。结果表明所有样品组的细胞毒性都在 0~1 级之间,即无毒性、细胞相容性好。制备的 n-HA 与 40% n-HA 复合材料的平均细胞增殖率甚至高于 100%,这说明复合材料中除两种主体物质外,其余如促凝剂、分散剂、固化液等成分亦无毒性;材料结晶、浸泡等过程中也未产生潜在的毒性产物。这完全符合以往关于 HA 与 CSH 无毒,不引起溶血、过敏、肿瘤和畸形反应等的报道^[11,12]。

复合材料在家兔肌肉和骨组织内埋植后,均未出现任何坏死、纤维化、异位骨化和囊性改变。肌肉内早期炎症反应是机体的正常应答,也是构成材料降解的主要机制。本研究发现复合材料是通过“炎症-细胞吞噬-酶解”的途径稳步吸收的。大体水平上,材料体现为明确的分层降解模式。由于体液的浸泡和组织的作用,材料由外层逐渐向核心崩解、吸收,这与 Nilsson 等^[13]的观察一致。这一现象的意义在于,材料完全可以作为某些成骨因子或抗生素的载体,通过分层有序的降解来达到药物的缓慢释放。病理学和超微组织学观察则提示“炎症-细胞吞噬-酶解”的变化主要出现于材料界面,表层材料崩解散开后,为炎性细胞所分隔、包围,大团或小片晶体物质被吞入细胞后,再形成众多吞噬小体分别加

以酶解。在此过程中,细胞并未发生核、膜破裂或细胞器异常,进一步证实材料安全。随着降解的完成,肌肉组织内的炎症细胞继续存在一定时间,并不遗留肉芽肿、钙化和纤维化等后果。

本研究发现,复合材料在家兔肌肉内的降解时间应在6~8周之间。肌肉组织内埋植6周已有约半数材料降解,8周时全部消失。影像提示的骨内降解时间则长于8周,这可能是肌肉内材料不断受到研磨积压从而加速崩解的缘故,骨缺损内机械活动干扰小,因而材料维持时间更长。此外,肌肉与骨组织在细胞及血供方面的差异也是导致降解速度不一致的重要原因。与软组织类似,骨内材料的降解也由成纤维细胞、破骨细胞等介导的。Bell^[14]曾将硫酸钙材料埋植于成年犬肌肉内,最长吸收时间为4.7周。Nilsson等^[13]和Turner等^[15]报道的纯硫酸钙骨内吸收约6周,但CS/HA复合物的降解时间尚不足4周。Stubbs等^[16]报道的复合材料体内存留时间则视皮质、髓腔等埋植部位的差异而不等。本研究组认为,研究所用材料的性质、配比、外形体积、实验模型等不同,都会造成较大的结果差异。本研究所采用了n-HA含量20%的复合材料,前期工作发现该比例对于注射性能、凝固时间及机械强度都较合适,本研究则进而提示其降解速度已基本接近正常骨的愈合时间。研究采用的骨钻孔虽非标准骨缺损模型,但也充分显示了该材料良好的成骨性能。未来通过配合方式等因素的进一步调节,完全可以实现材料降解的合理化和可控化,以适应不同临床情况的需要。

总之,本研究结果表明,n-HA/CSH复合物是一种良好的注射式人工骨材料,具有理想的生物相容性和降解特性,在诱导新生骨形成的同时,其降解速度可调节控制。同时,该材料分层降解的特点使其有望成为细胞因子或药物的控释载体。

[参考文献]

- [1] Wang X, Li Y, Wei J, et al. Development of biomimetic nano-hydroxyapatite/poly (hexamethylene adipamide) composites [J]. *Biomaterials*, 2002, 23: 4787-4791.
- [2] Webster TJ, Ergun C, Doremus RH, et al. Enhanced osteoclast-like cell function on nanophase ceramics [J]. *Biomaterials*, 2001, 22: 1327-1333.
- [3] Walsh WR, Chapman-Sheath PJ, Cain S, et al. A resorbable porous ceramic composite bone graft substitute in a rabbit metaphyseal defect model [J]. *J Orthop Res*, 2003, 21: 655-661.
- [4] Frame JW, Rout PG, Browne RM. Ridge augmentation using solid and porous hydroxyapatite particles with and without autogenous bone or plaster [J]. *J Oral Maxillofac Surg*, 1987, 45: 771-778.
- [5] Turner TM, Urban RM, Hall DJ, et al. Osseous healing using injectable calcium sulfate-based putty for the delivery of demineralized bone matrix and cancellous bone chips [J]. *Orthopedics*, 2003, 26(5 Suppl): S571-S575.
- [6] Turner T, Urban R, Tomlinson M, et al. Early restoration of bone following vertebroplasty using a high strength injectable calcium sulfate bone graft substitute compared to polymethylmethacrylate [J]. *Spine J*, 2004, 4(5 Suppl 1): S106-S107.
- [7] Sato S, Koshino T, Saito T. Osteogenic response of rabbit tibia to hydroxyapatite particle-plaster of Paris mixture [J]. *Biomaterials*, 1998, 19: 1895-1900.
- [8] Yang DA, Yang Z, Li X, et al. A study of hydroxyapatite/calcium sulphate bioceramics [J]. *Ceram Int*, 2005, 31: 1021-1023.
- [9] 张民, 王建生, 卫小春, 等. 可注射性硫酸钙/羟基磷灰石骨替代材料的性能研究 [J]. *中国康复*, 2006, 1: 16-17.
- [10] 郝和平, 奚廷斐, 卜长生. 医疗器械监督管理和评价 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2001: 233-235.
- [11] 温波, 陈治清, 蒋引珊. 纳米羟基磷灰石对成骨细胞功能代谢影响的研究 [J]. *生物医学工程学杂志*, 2005, 22: 463-467.
- [12] Delloye C, Cnockaert N, Cornu O. Bone substitutes in 2003: an overview [J]. *Acta Orthop Belg*, 2003, 69: 1-8.
- [13] Nilsson M, Wang JS, Wielanek L, et al. Biodegradation and biocompatibility of a calcium sulphate-hydroxyapatite bone substitute [J]. *J Bone Joint Surg Br*, 2004, 86: 120-125.
- [14] Bell WH. Resorption characteristics of bone and plaster [J]. *J Dent Res*, 1960, 39: 727-734.
- [15] Turner TM, Urban RM, Gitelis S, et al. Resorption evaluation of a large bolus of calcium sulfate in a canine medullary defect [J]. *Orthopedics*, 2003, 26(5 Suppl): S577-S579.
- [16] Stubbs D, Deakin M, Chapman-Sheath P, et al. *In vivo* evaluation of resorbable bone graft substitutes in a rabbit tibial defect model [J]. *Biomaterials*, 2004, 25: 5037-5044.

[收稿日期] 2006-03-08

[修回日期] 2006-09-15

[本文编辑] 贾泽军, 邓晓群