



复合人工骨与自体骨移植近期融合效果比较研究

珊瑚因有着与人骨相似的微孔结构和无机成分,于20世纪50年代被应用于矫形外科和颌面外科,但降解速率过快,远远高于骨形成的速率。20世纪70年代有人通过“热液交换反应”将珊瑚的化学成分改变为羟基磷灰石[1][2](hydroxyapatite, HA),从而降低了它的降解速率。至90年代末,珊瑚羟基磷灰石(CHA)在国外开始以医疗产品的形式应用于临床。几丁糖作为药物的缓释剂和抑菌剂于20世纪60年代被发现,90年代末应用于临床[3][4]。骨形态形成蛋白(BMP)于20世纪60年代被发现,天然BMP于80年代开始尝试用于临床[5],但重组人BMP-2(rhBMP-2)尚未见临床应用的报道。我们以珊瑚羟基磷灰石-重组人骨形态形成蛋白-几丁糖组成复合人工骨材料(coralline hydroxyapatite composite, CHC)做为自体骨移植替代物,经过了7年的体外实验、动物实验后[4][5][6][7][8][9][10][11],开始现在的临床研究。

1 材料与及方法

1.1 序贯试验设计

纳入标准:1999年12月~2001年12月在第一军医大学南方医院住院治疗的病人,临床诊断明确,有手术指征,需要进行骨移植,本人及家属愿意接受临床试验,共计40例。包括骨不连、脊柱融合的病例。排除标准:在纳入标准的基础上,有心、肺、肝、肾等实质脏器功能异常者;因居住、交通等条件不便难以坚持随访者;能够接受该试验,但难以配对的病例,不参加本试验的统计。配对方式:对脊柱融合病例,为同一病人、不同节段的融合,或性别相同、年龄相近的不同病人,相同节段的融合;对骨不连病例为性别相同、年龄相近、部位相同的病例。每对病例,按照随机方式选用自体骨或复合人工骨移植。

1.2 试验结果的判定标准

有效标准: $\gamma=FS/SF=2$,该人工骨的融合效果优于自体骨时,接受本人工骨。无效标准: $\gamma=FS/SF=1$,该人工骨的融合效果不优于自体骨时,不接受本人工骨。假阳性率 $\alpha=0.05$,假阴性率 $\beta=0.05$ 。并按照该数要求查统计表,求出图表的上界U和下界L,并绘制试验边界图。

1.3 临床资料

接受试验的病例共25例,其中男21例,女4例;年龄19~61岁,平均34岁。配成15对(包括自身对照)。随访25例,随访期限3个月。应用部位为脊柱融合21例(颈椎15例、9对,腰椎6例、4对),股骨骨不连4例(2对)。

1.4 CHC人工骨的制备

取一定量的重组人骨形态形成蛋白(rhBMP-2),按一定的比例与几丁糖溶液混合后置滴型管中,将预制CHA骨条浸入,低温负压冻干,封口后,环氧乙烷消毒,备用[6][12]。

1.5 手术方法

颈椎椎间融合:Robertson法[7],加钢板内固定。腰椎椎间融合:More法[12],加椎弓根钉系统内固定。股骨骨不连:清除纤维组织或硬化骨组织,再通髓腔,植骨并加用交锁髓内钉内固定,人工骨植入处加自

体红骨髓2~5 ml同进植入[12]。

1.6 骨融合的观察方法

手术后10周行X光摄片检查，为岛津RS-110800 MA型X光机，投射条件60 kV，5 mas，焦距110 cm，底片感光率100°。摄侧位和前后位片。以Lane-Sandhu X线评分法[10, 14]评价融合效果，观察结果列入相应表格中。

2 结果

手术后10周X光检查，并按照Lane-Sandhu X线评分法评定的骨愈合分数见表1。按照表中的病例序号，去除相同结果的2对，逐一绘入图1。从试验结果可得出，在15对接受临床试验的病例中，去除2对相同的病例后，试验连线与上界相交，因此接受有效的假设，即在手术后10周，人工骨比自体骨的融合效果好。

表 1 自体骨与人工骨移植术后 10 周融合效果的 X 线评价分数

Tab.1 Scores of X-ray examination at 10 weeks after operation

Number	CHC	Autograft	Result
1	4	3	S/F
2	4	3	S/F
3	4	3	S/F
4	4	3	S/F
5	3	4	F/S
6	4	3	S/F
7	4	3	S/F
8	4	3	S/F
9	3	3	(Delete)
10	4	3	S/F
11	4	3	S/F
12	4	3	S/F
13	3	3	(Delete)
14	4	3	S/F
15	4	3	S/F

S/F = Successful/Failure, F/S= Failure/Successful;

CHC: Coralline hydroxyapatite composite

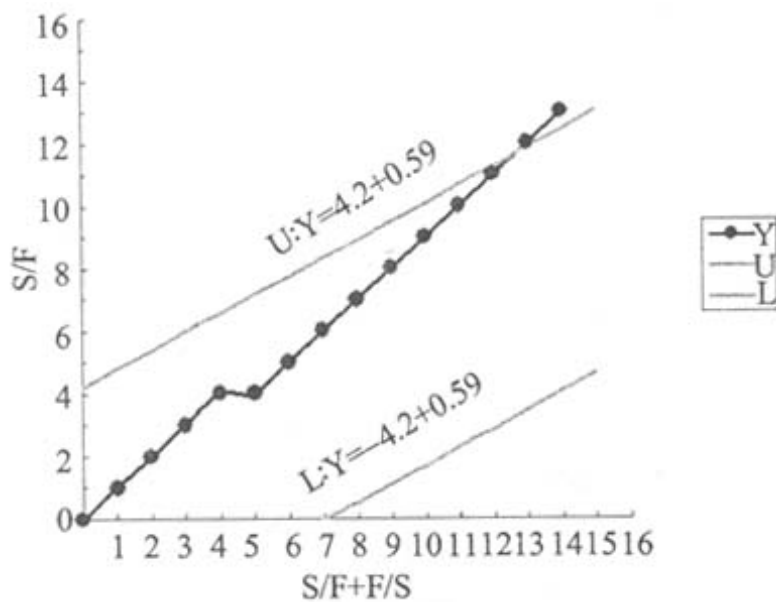


图1 人工骨与自体骨融合效果序贯实验图

Tab.1 Sequential test about CHC and autograft

U is the upper bound in the sequential test, and the functional equation is $Y_u = 4.2 + 0.59n$, where n is the number of the pairs of cases. L is the lower bound, and the equation is $Y_l = -4.2 + 0.59n$, where Y is the practice line of the test. When lines Y and U intersect, we stop the test and the assumption that CHC is better than autograft for bone fusion at 10 weeks after operation was validated.

3 讨论

CHA来源广泛，相容性好，不传染疾病；有较多的孔隙及均匀的孔隙率，来自不同年代或产地的天然珊瑚具有不同的孔径大小，可以根据不同的应用部位和要求进行选择。CHA具有巨大的接触面积，是良好的生物载体，既可吸附生物因子，又可吸附化疗药物，有应用于感染伤口和肿瘤病例的发展前景。本研究应用CHA吸附rhBMP-2，增加了该种骨移植替代物的骨诱导作用，并在试验中证实了这一设想。rhBMP-2是不溶于水的酸性蛋白，通过应用几丁糖，解决了溶剂问题，从而简化了制备工序，提高了效率，降低了蛋白活性的损失程度[6][7]。使rhBMP-2的作用均匀、持久，并减轻了骨移植的炎症反应。本试验说明，该种人工骨具有来源广泛、制备工艺简单的特色以及具有骨传导、骨诱导、抑制炎症反应的生物学特性，是良好的骨移植替代物[12][15]。

天然BMP临床应用效果肯定，但天然BMP的提取工艺复杂，数量有限，因此，目前没有大样本临床研究的报道。经基因工程重组的人BMP即rhBMP，有较多的动物实验报道，并取得了较好的实验效果[16][17][18][19][20]，并已经证明了BMP可以跨越种属起到相同的作用[18][21]。但是临床试验少见报道，该药的人体应用剂量、近期、远期临床观察与研究有待深入进行。本试验采用动物实验数据和国内外天然BMP的用量作为参考，并根据病人的体质量、年龄等情况来综合考虑，每个病人应用5~30 mg不等。手术后10周，单纯从骨融合效果来观察，复合人工骨的效果要好于自体骨。试验结果说明该药在目前的剂量下，表现出良好的骨诱导作用。

序贯试验设计特别适宜临床疗效观察的试验研究，该方法节省病例，试验结果准确，误差小。本试验采用了25个病例，配对观察，渐进式进行。每观察一对病例，即在图中标记，一旦出现实际曲线与上界或下界相交，即可停止试验，得出结果。但是，该研究要求观察指标必须单一、量化。本研究应用了骨融合作为观察指标，并应用Lane-Sandhu X线评分法[14]，使试验能够顺利进行。在观察过程中，其他指标不能一并作为

试验的观察指标,是该试验方法的不足。

CHC人工骨仍有待解决的问题,一是降解速率要改进。CHC不易降解,近期病例中没有见到降解,在远期2年以上的观察病例中,降解仍不明显,理想的骨移植替代物应该具有与成骨速率搭配的降解速率。另一问题是CHC人工骨的机械强度需提高。CHA的Mohs硬度为4~5之间,在液体环境中的硬度下降,脆性增加。如何通过理化方法,在保留孔隙率和孔隙结构的情况下,提高机械强度是我们以后要研究的课题。

参考文献:

[1] White RA, Weber TN, White EW, et al. Replamineform: a new process for preparing porous ceramic, metal, and polymer prosthetic material[J]. Science, 1972, 176(543): 922-4.

[2] 刘金标, 陈建庭, 金大地, 等. 珍珠层/聚乳酸组合人工骨体外相容性及降解实验研究[J]. 第一军医大学学报, 2003, 23(2): 130-2.

Liu JB, Chen JT, Jin DD, et al. In vitro biocompatibility and degradation of nacre/polylactic acid composite artificial bone[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2003, 23(2): 130-2.

[3] Yomota C, Komuro T, Kimura T, Study in the degradation of chitosan film by lysozyme and release of load chemicals[J]. Yakugaku Zasshi, 1990, 110(5): 442-9.

[4] 闵少雄, 靳安民, 童斌辉, 等. 三维多孔聚DL-乳酸/碱性成纤维细胞生长因子修复长骨缺损[J]. 第一军医大学学报, 2003, 23(4): 318-22.

Min SX, Jin AM, Tong BH, et al. Three-dimensional porous poly- DL-lactide / basic fibroblast growth factor composites for bone defect repair: an experimental study[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2003, 23(4): 318-22.

[5] Urist MR, Liechte A, Dowson E. β -tricalcium phosphate delivery system for bone morphogenetic protein[J]. Clin Orthop, 1984, 187(2): 277-87.

[6] 张余, 尹庆水, 李兆麟, 等. 复合珊瑚羟基磷灰石异位成骨效果的实验研究[J]. 实用医学杂志, 2002, 18(5): 458-60.

Zhang Y, Yin QS, Li ZL, et al. The study of bone constuction at wrong site with compite coralline hydroxyapapite[J]. Prac Med, 2002, 18(5): 458-60.

[7] 张余, 尹庆水, 李兆麟, 等. 复合珊瑚羟基磷灰石人工骨应用于颈椎椎间融合的实验研究[J]. 广东医学杂志, 2002, 23(9): 907-8.

Zhang Y, Yin QS, Li ZL, et al. A experiment on the in vivo evaluation of anterior cervical interbody fusions with combined hydroxyapatite graft material[J]. Guangdong Med J, 2002, 23(9): 907-8.

[8] 张余, 尹庆水. 骨组织工程中生物因子的现状及进展[J]. 广东医学杂志, 2003, 24(2): 214-5.

Zhang Y, Yin QS. The progress of the biofactoer of bone tissue engineering [J]. Guangdong Med J, 2003, 24(2): 214-5.

[9] 张余, 尹庆水. 骨组织工程中支架材料的现状及进展[J]. 实用医学杂志, 2003, 19(2): 202-5.

Zhang Yu, Yin QS. The progress of the material of bone tissue engineering[J]. Prac Med J, 19(2): 202-5.

[10] 尹庆水, 张余, 李兆麟, 等. 复合珊瑚羟基磷灰石人工骨的研制和临床应用[J]. 骨与关节损伤杂志, 2003, 18(3): 147-9.

Yin QS, Zhang Y, Li ZL, et al. Preparation of composite rhBMP-2/ CHA bone graft substitutes and clinical application[J]. J Inj Bone Joint, 2003, 18(3): 147-9.

[11] 尹庆水, 张惠民, 苏增贵, 等. 珊瑚羟基磷灰石人工骨的研制和修复骨干缺损实验研究[J]. 中华骨科杂志, 1996, 16(11): 726-31.

Yin QS, Zhang HM, Su ZG, et al. The study and trial with composite coralline hydroxyapapite in long bone[J]. J Chin Orthop, 1996, 16(11): 726-31.

[12] 尹庆水, 张惠民, 苏增贵, 等. 核素扫描对珊瑚羟基磷灰石人工骨的成骨效果的观察[J]. 中华骨科杂志, 1997, 17(6): 926-31.

Yin QS, Zhang HM, Su ZG, et al. The research with composite coralline hydroxyapatite by nuclear element[J]. J Chin Orthop, 1997, 17(6): 926-31.

[13] 任高宏, 裴国献, 顾立强, 等. 成人成骨细胞与珊瑚羟基磷灰石的体外生物相容性[J]. 第一军医大学学报, 2002, 22(11): 974-8.

Ren GH, Pei GX, Gu LQ, et al. Biocompatibility of adult human osteoblasts with coral-derived hydroxyapatite in vitro[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2002, 22(11): 974-8.

[14] Lane JM, Sandhu HS. Current approaches to experimental bone grafting[J]. Orthop Clin North Am, 1987, 18(2): 213-25.

[15] 张亮, 靳安民, 郭志民, 等. 不同孔径骨修复材料消旋聚乳酸对骨再生的影响[J]. 第一军医大学学报, 2002, 22(5): 423-6.

Zhang L, Jin AM, Guo ZM, et al. Effect of pore size of D, L-poly(lactic acid) as bone repair material on bone regeneration[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2002, 22(5): 423-6.

[16] Joseph M, Lane MD, Ember T, et al. Biosynthetic bone grafting[J]. Clin Orthop [J], 1999, (367 Suppl): S107-17.

[17] Brain P, Hecht MD, Jeffery S, et al. The use of recombinant human bone morphogenetic protein 2 (rhBMP-2) to promote anterior inter body fusion model[J]. Spine, 1999, 24 (7): 629-36.

[18] 赵明, 王会信, 周廷冲. 重组人骨形态发生蛋白-2成熟在大肠杆菌中的表达及其诱导成骨活性[J]. 生物化学杂志(J Biochem), 1994, 10(3): 319-24.

[19] Johnson EE, Urist MR, Finer GA. Bone morphogenetic protein augmentation grafting of resistant femoral nonunion. A preliminary report[J]. Clin Orthop, 1988, 230(3): 257-9.

[20] 孙安科, 裴国献, 周国平, 等. 改良以聚羟基乙酸为支架同种异体组织工程化塑形软骨的构建[J]. 第一军医大学学报, 2002, 22(11): 996-9.

Sun AK, Pei GX, Zhou GP, et al. Improvement upon construction of tissue-engineered allogeneic cartilage molded with polyglycolic acid as the scaffold[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2002, 22(11): 996-9.

[21] 胡蕴玉. 把握契机 加快我国组织工程学的应用研究[J]. 中华骨科杂志, 2000, 20(9): 517-8.
Hu YY. Get hold of the challenging opportunity and strengthen the practical research on tissue engineering in china [J]. J Chin Orthop, 2000, 20(9): 517-8.

参考文献:

[1] White RA, Weber TN, White EW, et al. Replamineform: a new process for preparing porous ceramic, metal, and polymer prosthetic material[J]. Science, 1972, 176(543): 922-4.

[2] 刘金标, 陈建庭, 金大地, 等. 珍珠层/聚乳酸组合人工骨体外相容性及降解实验研究[J]. 第一军医大学学报, 2003, 23(2): 130-2.

Liu JB, Chen JT, Jin DD, et al. In vitro biocompatibility and degradation of nacre/poly(lactic acid) composite artificial bone[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2003, 23(2): 130-2.

[3] Yomota C, Komuro T, Kimura T. Study in the degradation of chitosan film by lysozyme and release of load chemicals[J]. Yakugaku Zasshi, 1990, 110(5): 442-9.

[4] 闵少雄, 靳安民, 童斌辉, 等. 三维多孔聚DL-乳酸/碱性成纤维细胞生长因子修复长骨缺损[J]. 第一军医大学学报, 2003, 23(4):318-22.

Min SX, Jin AM, Tong BH, et al. Three-dimensional porous poly- DL-lactide / basic fibroblast growth factor composites for bone defect repair: an experimental study[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2003, 23(4): 318-22.

[5] Urist MR, Liechte A, Dowson E. β -tricalcium phosphate delivery system for bone morphogenetic protein[J]. Clin Orthop, 1984, 187(2): 277-87.

[6] 张余, 尹庆水, 李兆麟, 等. 复合珊瑚羟基磷灰石异位成骨效果的实验研究[J]. 实用医学杂志, 2002, 18(5): 458-60.

Zhang Y, Yin QS, Li ZL, et al. The study of bone constuction at wrong site with compite coralline hydroxyapapite[J]. Prac Med, 2002, 18(5): 458-60.

[7] 张余, 尹庆水, 李兆麟, 等. 复合珊瑚羟基磷灰石人工骨应用于颈椎椎间融合的实验研究[J]. 广东医学杂志, 2002, 23(9): 907-8.

Zhang Y, Yin QS, Li ZL, et al. A experiment on the in vivo evaluation of anterior cervical interbody fusions with combined hydroxyapatite graft material[J]. Guangdong Med J, 2002, 23(9): 907-8.

[8] 张余, 尹庆水. 骨组织工程中生物因子的现状及进展[J]. 广东医学杂志, 2003, 24(2): 214-5.

Zhang Y, Yin QS. The progress of the biofactoer of bone tissue engineering [J]. Guangdong Med J, 2003, 24(2): 214-5.

[9] 张余, 尹庆水. 骨组织工程中支架材料的现状及进展[J]. 实用医学杂志, 2003, 19(2): 202-5.

Zhang Yu, Yin QS. The progress of the material of bone tissue engineering[J]. Prac Med J, 19(2): 202-5.

[10] 尹庆水, 张余, 李兆麟, 等. 复合珊瑚羟基磷灰石人工骨的研制和临床应用[J]. 骨与关节损伤杂志, 2003, 18(3): 147-9.

Yin QS, Zhang Y, Li ZL, et al. Preparation of composite rhBMP-2/ CHA bone graft substitutes and clinical application[J]. J Inj Bone Joint, 2003, 18(3): 147-9.

[11] 尹庆水, 张惠民, 苏增贵, 等. 珊瑚羟基磷灰石人工骨的研制和修复骨干缺损实验研究[J]. 中华骨科杂志, 1996, 16(11): 726-31.

Yin QS, Zhang HM, Su ZG, et al. The study and trial with composite coralline hydroxyapaptite in long bone[J]. J Chin Orthop, 1996, 16(11): 726-31.

[12] 尹庆水, 张惠民, 苏增贵, 等. 核素扫描对珊瑚羟基磷灰石人工骨的成骨效果的观察[J]. 中华骨科杂志, 1997, 17(6): 926-31.

Yin QS, Zhang HM, Su ZG, et al. The resarch with composite coralline hydroxyapaptite by nuclear element[J]. J Chin Orthop, 1997, 17(6): 926-31.

[13] 任高宏, 裴国献, 顾立强, 等. 成人成骨细胞与珊瑚羟基磷灰石的体外生物相容性[J]. 第一军医大学学报, 2002, 22(11): 974-8.

Ren GH, Pei GX, Gu LQ, et al. Biocompatibility of adult human osteoblasts with coral-derived hydroxyapatite in vitro[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2002, 22(11): 974-8.

[14] Lane JM, Sandhu HS. Current approaches to experimental bone gra- fting[J]. Orthop Clin North Am, 1987, 18(2): 213-25.

[15] 张亮, 靳安民, 郭志民, 等. 不同孔径骨修复材料消旋聚乳酸对骨再生的影响[J]. 第一军医大学学报, 2002, 22(5): 423-6.

Zhang L, Jin AM, Guo ZM, et al. Effect of pore size of D, L-polylactic acid as bone repair material on bone regeneration[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao,

2002, 22(5): 423-6.

[16] Joseph M, Lane MD, Ember T, et al. Biosynthetic bone grafting[J]. Clin Orthop [J], 1999, (367 Suppl): S107-17.

[17] Brain P, Hecht MD, Jeffery S, et al. The use of recombinant human bone morphogenetic protein 2 (rhBMP-2) to promote anterior inter body fusion model[J]. Spine, 1999, 24 (7): 629-36.

[18] 赵明, 王会信, 周廷冲. 重组人骨形态发生蛋白-2成熟在大肠杆菌中的表达及其诱导成骨活性[J]. 生物化学杂志(J Biochem), 1994, 10(3): 319-24.

[19] Johnson EE, Urist MR, Finer GA, Bone morphogenetic protein augmentation grafting of resistant femoral nonunion. A preliminary report[J]. Clin Orthop, 1988, 230(3): 257-9.

[20] 孙安科, 裴国献, 周国平, 等. 改良以聚羟基乙酸为支架同种异体组织工程化塑形软骨的构建[J]. 第一军医大学学报, 2002, 22(11):996-9.

Sun AK, Pei GX, Zhou GP, et al. Improvement upon construction of tissue-engineered allogeneic cartilage molded with polyglycolic acid as the scaffold[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2002, 22(11): 996-9.

[21] 胡蕴玉. 把握契机 加快我国组织工程学的应用研究[J]. 中华骨科杂志, 2000, 20(9): 517-8.

Hu YY. Get hold of the challenging opportunity and strengthen the practical research on tissue engineering in china [J]. J Chin Orthop, 2000, 20(9): 517-8.

[回结果列表](#)