

纳米晶胶原基骨材料在骨科疾病中的应用€

沈铁城¹, 夏青¹, 黄永辉¹, 徐晓峰¹, 崔福斋², 田进¹, ¹江苏大学附属医院骨科, 江苏省镇江市 212001; ²清华大学材料科学与工程系, 北京市 100000

沈铁城, 男, 1945年生, 江苏省镇江市人, 汉族, 1970年上海第一医学院毕业, 教授, 主任医师, 主要从事脊柱外科、创伤骨科的研究。

stc986@sina.com

收稿日期: 2006-09-02 修回日期: 2006-10-25 (06-50-9-6573/Y·Y)

A p p l i c a t i o n o f n a n o h y d r o x y a p a t i t e / c o l l a g e n i n o r t h o p a e d i c s

¹Department of Orthopaedics, Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China; ²Department of Materials Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100000, China

A b s t r a c t

A I M To observe the healing time and the repairing effects of bone after nano-hydroxyapatite/collagen (NHAC) implantation and study its clinical application in orthopaedics.

M E T H O D S From March 2003 to March 2005, there were 32 cases with bone defects enrolled from Affiliated Hospital of Jiangsu University, and they all underwent surgical procedure but had bone defects, as well as 5 cases with nonunion, 4 cases with benign bone tumor and 4 cases with spondylolysis. All of them were diagnosed by X ray according to self-designed standard of this clinical experiment, and knew the treatment scheme and agreed. ①In the bone defects after bone fracture, it was comminuted fracture in all parts of four limbs, after operation and reduction it presented bone defects. So NHAC was implanted. ②In the nonunion of bone, we excised the scar and ossified tissue in fracture, and reamed the medullary cavity, and then implanted the NHAC. ③In the benign bone tumor, NHAC was implanted after excision of diseased bone. ④In the spondylolysis, NHAC together with autograft were implanted in 2 cases after decompression, RF reduction and internal fixation. In one case, autologous bone was implanted in his left side while NHAC was implanted in the right side. Another one case received the operation of autologous bone implantation, but the healing isthmus was not solid, so NHAC was implanted.

R E S U L T S Totally 42 cases were followed up. ①Among the 29 cases of bone defects, 25 cases got clinical healing from 2 to 7 months after operation. As for other 4 cases, one case of ulnar bone defect showed nonunion after NHAC had been implanted for 2 years, and got healing effect at 2 years and 9 months after implantation; In one case of comminuted bone fracture in upper and middle tibial bone, a few of bone scars were observed at 15 months after implantation. The other two were reoperated for restoration and internal fixation, because of broken fixator as the patients exerted a heavy burden on the suffering broken limb. ②Among those 5 bone nonunion cases, 2 cases got healing 9 months later; 3 cases got nonunion after only NHAC implantation, including 2 cases got healing after reoperation by autologous bone implantation in 1 year. ③Among 4 cases with benign bone tumor, we got good results in 2 cases of bone cyst. But in the other 2 cases

of osteofibrous dysplasia, we operated with autograft of bone and got healing. ④ Among the 4 cases of spondylolisthesis, the preoperative symptoms (backleg pain) of 3 cases disappeared, and the broken shadows were not found through X-ray, while the rest one still felt benumbed and pain in lower limbs and presented no healing via X ray.

C O N C L U S I O N NHAC has good biocompatibility and biodegradability. After being implanted in bodies, it has good conductivity, and can be used in bone defects induced by crushed bone fracture in limbs; but it has no osteal conductivity, for bone defect caused by nonunion and benign bone tumor etc. we should use NHAC together with autograft.

摘要

目的：观察纳米晶胶原基骨材料（简称人工骨）植入后骨愈合的时间和骨修复效果，探讨人工骨在骨科临床的应用范围。

方法：于2003—03/2005—03选择江苏大学附属医院骨科收治的骨折后骨缺损患者32例，骨不连患者5例，骨肿瘤患者4例，腰椎峡部裂患者4例。均符合本临床试验所制定的诊断标准，并经X射线片确诊，患者均知情同意。①骨折后骨缺损患者：均为四肢各部位粉碎性骨折，经切开复位后有骨缺损，采用人工骨植入骨缺损处。②骨不连患者：将骨折端瘢痕及硬化骨切除、髓腔打通后，植入人工骨。③良性骨肿瘤患者：将病骨刮除后植入人工骨。④腰椎峡部裂患者：在减压，RF复位、内固定后有2例行自体骨与人工骨混合植入，1例左侧行自体骨、右侧行人工骨植入，另1例在原来行自体骨植骨基础上因愈合欠牢固，而在原植骨处加植人工骨。

结果：42例患者获得随访。①骨折后骨缺损患者29例，25例在术后2~7个月先后达临床愈合。另4例中，1例尺骨缺损植人工骨处术后2年尚无骨痂形成，术后2年9个月骨缺损处愈合；1例胫骨中上段粉碎骨折于术后15个月见原骨缺损植人工骨处骨痂形成不多。其余2例为术后过早负重，发生钢板断裂，给予重新手术复位、固定。②骨不连患者5例，有2例于术后9个月愈合，3例单纯植人工骨者未愈，其中2例再手术行自体骨移植，术后1年愈合。③良性骨肿瘤患者4例，骨囊肿2例术后未见复发。骨纤维结构不良2例，术后再次手术，改行自体骨移植。④腰椎峡部裂患者4例，3例术前腰腿痛症状消失，复查X射线片见原峡部断裂影消失。1例仍感下肢麻痛，复查X射线片见植骨愈合欠佳。

结论：纳米晶胶原基骨材料具有良好的生物相容性及生物可降解性能，植入体内具有良好的骨传导作用，可用于四肢粉碎性骨折所致的骨缺损；因其不具备骨诱导成分，对于骨不连、良性骨肿瘤等所致骨缺损，宜将纳米晶胶原基骨材料和自体骨混合使用。

关键词：纳米羟基磷灰石/胶原复合材料；骨缺损；骨移植

课题背景：课题获镇江市科技局科研基金资助，与清华大学材料系协作进行的“纳米晶胶原基骨材料”临床试验，属国家高技术研究发展计划课题的内容。该课题名称为胶原基硬组织修复材料的仿生制备及应用（2001AA326050）。该材料技术被Nature Materials给予很高评价并有中国和美国发明专利。项目相关研究获国际材料研究联合会2003年SOMIYA奖。

创新要点：实验为纳米晶胶原基骨材料的临床试验，应用于骨折后骨缺损、良性骨肿瘤、骨不连及腰椎疾患需植骨的患者，观察其效果。实验结果以病例描述、随访调查和典型患者的实证资料（X射线片）为举证基础，证实该材料具有较好的生物相容性和可降解性，可应用于骨折后骨缺损的治疗。因其缺乏骨诱导能力，应用于良性骨肿瘤、骨不连等疾患时，需与自体骨或骨髓干细胞联合使用。结果对该产品的临床使用有一定的指导意义。

同行评价：在国家自然科学基金和国家高技术研究发展计划等专项基金资助下，清华大学崔福斋等人成功研制了纳米晶胶原基骨材料并申请多项国内外专利。该材料经过动物实验等初步证明具有较好的生物相容性和传导成骨能力，但需临床实验验证。本文从临床角度研究了材料植入人体后的临床效果，为同类材料的临床使用提供了病例依据。

0 引言

骨移植术在骨科的临床治疗中占有重要的地位，亦是国内外许多学者非常关注的研究课

题之一[1-5]。本实验应用清华大学材料系研制的纳米晶胶原基骨材料(简称人工骨)治疗45例骨科患者,其中骨折后骨缺损32例,骨不连5例,骨肿瘤4例,腰椎峡部裂4例,经随访效果满意。

1 对象和方法

设计:病例随访观察。

单位:江苏大学附属医院骨科。

对象:于2003-03/2005-03选择江苏大学附属医院骨科收治的骨折后骨缺损患者32例,骨不连患者5例,骨肿瘤患者4例,腰椎峡部裂患者4例。纳入标准:①诊断标准:骨折后骨缺损:粉碎性或陈旧性骨折经复位后,在骨干部位缺损宽度 > 3 mm,干骺端 > 5 mm。骨不连:骨折超过其愈合时间1倍以上尚未愈合,或骨折端已硬化、髓腔封闭。骨肿瘤:X射线片及病理检查为良性骨肿瘤或瘤样病损。腰椎峡部裂:腰椎左右斜位片显示峡部断裂。②患者均知情同意。患者的基本资料:①骨折后骨缺损患者32例,男25例,女7例;年龄21~83岁,平均43.8岁。骨折部位:肱骨外科颈2例,肱骨干5例,尺骨鹰嘴2例,尺桡骨5例,股骨粗隆5例,股骨干3例,胫骨平台6例,胫腓骨4例。其中粉碎性骨折31例,陈旧性骨折1例。②骨不连患者5例,男3例,女2例;年龄31~77岁,平均52.8岁。骨不连部位:胫骨中下段3例,股骨下段1例,肱骨中段1例。骨不连处理时间:骨折后5~19个月,平均12.4个月。③良性骨肿瘤患者4例,其中骨囊肿2例(左股骨上段1例,男,11岁;左髌骨1例,女49岁);骨纤维结构不良2例(右胫骨中、上段1例,女,10岁;右桡骨中下段1例,伴病理骨折,男,12岁)。④腰椎峡部裂患者4例,其中男2例,女2例;年龄37~71岁。L5 I度滑脱3例,L4 I度滑脱1例。

设计、实施、评估者:设计为第一作者,实施为全部作者,评估为第一作者,评估者经过正规培训。

方法:

骨折后骨缺损患者:经切开复位后有骨缺损,采用人工骨植入缺损处。植骨量:根据骨缺损范围,植入0.33~2 g。人工骨类型:直径2 mm,直径5 mm的立方体,以及长度20 mm、直径10 mm的圆柱体。

骨不连患者:胫骨中下段骨不连3例,2例(左右各1例)为交锁髓内钉固定,给予分别取出远端锁钉后,1例植入直径5 mm人工骨2 g,长度20 mm人工骨1 g;另1例植入直径2 mm人工骨1 g+自体红骨髓6 mL。第3例(左侧)为外固定支架固定11个月,改石膏固定8个月骨不连,断端处理后植入直径5 mm人工骨1 g,长度20 mm人工骨1 g加部分自体髌骨。右股骨下段1例,为交锁髓内钉固定术后19个月,予以取出远端锁钉后,断端处理后植入直径5 mm人工骨2 g,直径2 mm人工骨1 g。左肱骨中段1例,钢板固定术后5个月,断端处理后植入长度20 mm人工骨3 g。

良性骨肿瘤患者:除胫骨中、上段骨纤维结构不良1例,由于病变范围较广(自胫骨结节至胫骨中段),将病骨清除后,于骨腔上2/5植入人工骨3 g(直径5 mm 2 g,直径1 mm 1 g);骨腔下3/5植入植骨灵(活性植骨材料,重组异种骨,天津中津生物发展有限公司,批号:020604)4 g外,余3例均植入人工骨(直径2 mm或直径5 mm 1~2 g)。

腰椎峡部裂患者:51岁女性1例,L5 I度滑脱,于2003-07-04行减压+RF内固定+左侧自体骨,右侧人工骨(长度20 mm及直径2 mm各1 g)植于L5峡部断裂处;37岁男性1例,L5 I度滑脱,行减压RF内固定+自体骨植骨术后9个月,左侧提拉螺钉断裂,于2003-07-18行内固定取出,见原自体髌骨植骨处已愈合,但欠牢固,且X射线片尚可见原峡部断裂影(右侧)。于内固定取出后在L5峡部原断裂处加植人工骨(长度20 mm 2 g,直径2 mm 1 g;右侧约2 g,左侧约1 g);71岁男性1例,L5 I度滑脱,于2003-09-08行减压、RF内固定+左侧自体骨+植骨灵2 g;右侧自体骨+人工骨2 g(长度20 mm及直径2 mm各1 g)植入;48岁女性1例,L4 I度滑脱,于2003-11-05行减压、RF内固定+自体骨与人工骨植入。将长度20 mm,直径10 mm之人工骨劈成两半,一半置于L4右侧开窗处,然后再植入自体骨;另一半置于左侧自体骨植骨之表面。

主要观察指标:人工骨植入后骨愈合的时间和骨修复效果。

2 结果

获得随访42例。①骨折后骨缺损患者29例,25例在术后2~7个月先后达临床愈合,典型病例1,2见图1,2。另4例中,1例尺骨缺损植人工骨处术后2年尚无骨痂形成,术后2年9个月

骨缺损处愈合；1例胫骨中上段粉碎骨折于术后15个月见骨折仅部分愈合，原骨缺损植骨处骨痂形成不多。愈合尚不牢固，另2例（股骨干骨折1例及胫腓骨骨折1例）因术后过早负重行走，发生钢板断裂而重新手术。②骨不连患者5例，胫骨骨不连3例，有2例于术后9个月愈合，1例单纯植人工骨者未愈而于术后20个月再手术，取自体髂骨移植，于术后12个月愈合。股骨下段1例术后2年9个月仍未愈合，肱骨干1例术后1年未愈改植自体髂骨于术后1年骨不连愈合。③良性骨肿瘤患者4例，骨囊肿2例术后未见复发，典型病例3见图3，骨纤维结构不良2例，右桡骨中下段1例，因病理骨折及植骨未愈，而于术后9个月再次行自体髂骨移植。右胫骨中上段1例，于术后6个月植骨处逐步愈合，恢复良好。但术后2年6个月植人工骨处发现原病变复发，而再次手术，行自体骨移植。④腰椎峡部裂患者4例，3例术前腰腿痛症状消失，于术后8~9个月复查，见原峡部断裂影模糊或消失，1例（男性，71岁）腰部症状好转，但遗留下肢麻木症状，术后5个月复查，见植骨愈合欠佳。

a b c

a: 术前；b: 术后3 d, 骨折予切开复位克氏钢针固定，骨缺损处植入直径2 mm颗粒状人工骨1 g（箭头所示部位）；c: 术后5个月，植骨处愈合良好（箭头所示部位）

图1 典型病例1（男，38岁）左肱骨外科颈骨折手术前后X射线片

a b c

a: 术前；b: 骨折复位后骨缺损处植入直径10 mm、长度20 mm人工骨1 g，可保持良好的复位(箭头所示)；c: 术后6个月，植骨处愈合良好

图2 典型病例2（男，27岁）左胫骨平台骨折手术前后X射线片

a:术前3年; b: 术前X射线片示骨折愈合后囊肿未愈(箭头所示); c: 术后7 d, 行囊肿刮除植入直径2 mm人工骨2 g; d: 术后7个月, 植骨处大部分被新生骨替代, 箭头所指为部分人工骨被降解吸收; e: 术后3年1个月, 植骨处愈合良好

图3 典型病例3 (男, 11岁) 左股骨上段骨囊肿伴病理骨折手术前后X射线片

3 讨论

3.1 材料特性 纳米晶胶原基骨材料系纳米相羟基磷灰石/胶原复合材料, 是基于仿生观念制成的骨替代材料[4, 6, 7]。其晶体尺寸在纳米量级, 且晶体与胶原分子的组装结构与天然骨中矿物和胶原的组装结构相同[8], 为多孔框架材料, 具有与天然松质骨类似的三维孔洞网络结构[9], 植入体内后有利于营养的输送, 细胞的贴附、生长和迁移, 及随后的新骨形成[10]。

动物实验表明[11], 该材料具有生物降解性能, 在该材料植入3个月后, 其周边区域经历了较大程度的降解, 材料的活跃吸收造成植入物的众多凹陷, 与破骨细胞吸收形成的陷窝很相像, 而部分凹陷逐渐被新生骨组织所填充。随着该材料的进一步降解, 最终为自体骨组织所替代。新生骨的形成, 其整个过程与骨重建的过程很相似。由于该材料为细胞提供了与体内环境相似的外周微环境, 故生物相容性好[12—16]。并且纳米晶胶原基骨材料的制备系用化学方法合成, 在pH值保持在7.4左右提纯, 离心除去上清, 再用去离子水清洗一次, 冷冻干燥获得。故纳米晶胶原基骨材料复合材料无细胞毒性, 植入体内无排异反应。

3.2 纳米晶胶原基骨材料用于临床的优越性 在传统的治疗中, 植骨来源有自体骨和异体骨, 取自体骨有增加患者痛苦, 延长手术时间及遗留取骨部位术后疼痛等后遗症之不足; 用异体骨有出现排异反应, 增加切口感染机会, 植入骨被吸收导致手术失败之可能。因此近年来, 人们积极寻求用人工骨作为替代材料[4, 17, 18]。然而原有的人工骨不是矿物颗粒粗大(非纳米级), 就是无机/有机组装结构与天然骨不相同。故没有纳米晶胶原基骨材料所具备的骨键合能力。不能象纳米晶胶原基骨材料那样可提供适宜的环境促进胶原和矿物的沉积以及成骨细胞的黏附。本组病例使用纳米晶胶原基骨材料复合材料修复各种原因所导致的骨缺损, 证明了它具有良好的生物相容性及生物降解性能, 无细胞毒性、植入体内无排异反应、无过敏反应, 与自体骨植入有相似的效果, 是一种较为理想的骨替代材料[19, 20]。

3.3 纳米晶胶原基骨材料在骨科的临床应用 根据本科应用纳米晶胶原基骨材料治疗骨科患者3年多来的经验而言, 就目前生产的产品应用于长骨干骺端骨折后骨缺损具有良好的效果, 例如胫骨平台骨折、肱骨外科颈骨折、股骨转子间骨折等, 这些部位的粉碎性骨折, 在骨折复位后往往均有不同程度骨缺损, 此时应用纳米晶胶原基骨材料植入骨缺损处, 既可增加骨折复位后的稳定性, 又可起到良好的骨传导作用, 促进骨折的愈合。特别是胫骨平台骨折, 将塌陷的关节面复位后, 在其下方的缺损处植入纳米晶胶原基骨材料后, 可保持良好的复位, 防止复位丢失(图2)。由于干骺端有良好的血运, 植入纳米晶胶原基骨材料后均能达到预期愈合的效果。但对于骨干部位骨缺损, 特别是血运较差部位、骨不连、良性骨肿瘤等单纯使用纳米晶胶原基骨材料修复骨缺损, 效果并不可靠。本组3例骨不连单纯植入纳米晶胶原基骨材料均未能达到临床愈合。2例骨纤维结构不良单纯植入纳米晶胶原基骨材料, 1例未愈合, 1例术后2年半复发, 均再次手术行自体骨移植。而2例骨不连, 1例行纳米晶胶原基骨材料+自体骨混合移植; 1例纳米晶胶原基骨材料+自体红骨髓混合移植于术后1年内均愈合。本组临床应用结果提示纳米晶胶原基骨材料具有良好的骨传导作用, 但缺乏骨诱导作用。因此, 在骨科临床使用本产品时, 对干骺端有良好血运部位的骨缺损, 可单纯使用纳米晶胶原基骨材料修复; 而对

于血运较差部位,特别是骨不连、良性骨肿瘤,骨缺损范围较大,如单纯使用纳米晶胶原基骨材料则往往达不到预期效果。对这部分病例,应将纳米晶胶原基骨材料与自体松质骨或自体红骨髓混合后移植[2,3]。如能在纳米晶胶原基骨材料中融入骨形态发生蛋白及生长因子等骨诱导成分[3],此产品将成为更为完美的骨替代材料。

4 参考文献

1. Wang X, Li Y, Wei J, et al. Development of biomimetic nano-hydroxyapatite/poly (hexamethylene adipamide) composites. *Biomaterials* 2002;23(24):4787-4791
2. Cinotti G, Patti AM, Vulcano A, et al. Experimental posterolateral spinal fusion with porous ceramics and mesenchymal stem cells. *J Bone Joint Surg Br* 2004;86(1):135-142
3. Liao S, Tamura K, Zhu Y, et al. Human neutrophils reaction to the biodegraded nano-hydroxyapatite/collagen and nano-hydroxyapatite/collagen/poly(L-lactic acid) composites. *J Biomed Mater Res A* 2006;76(4):820-825
4. Liao SS, Cui FZ, Zhang W, et al. Hierarchically biomimetic bone scaffold materials: nano-HA/collagen/PLA composite. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2004;69(2):158-165
5. Cheng GX, Cai ZJ. Nano-structured scaffold materials used in tissue engineering. *Zhongguo Yixue Kexueyuan Xuebao* 2002;24(2):207-210
6. Du C, Cui FZ, Zhang W, et al. Formation of calcium phosphate/collagen composites through mineralization of collagen matrix. *J Biomed Mater Res* 2000;50(4):518-527
7. Wang RZ, Cui FZ, Lu HB, et al. Synthesis of nanophase hydroxyapatite collagen composite. *J Mater Sci Lett* 1995; 14:490-492
8. Weiner S, Wagne HD. The material bone: structure-mechanical function relations. *Annu Rev Mater Sci* 1998; 28:271-298
9. Liu L, Zhang L, Ren B, et al. Preparation and characterization of collagen-hydroxyapatite composite used for bone tissue engineering scaffold. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol* 2003;31(4):435-448
10. Sachlos E, Gotor D, Czernuszka JT. Collagen scaffolds reinforced with biomimetic composite nano-sized carbonate-substituted hydroxyapatite crystals and shaped by rapid prototyping to contain internal microchannels. *Tissue Eng* 2006;12(9):2479-2487
11. 冯庆玲, 崔福斋, 张伟. 纳米羟基磷灰石/胶原骨修复材料[J]. *中国医学科学院学报*, 2002, 24(2):124-128
12. 董青山, 李祖兵, 王虎中, 等. 纳米羟基磷灰石修复鼠下颌骨缺损[J]. *第四军医大学学报*, 2005, 26(13):1180-1184
13. 涂浩, 闫玉华. 纳米羟基磷灰石复合材料在骨组织工程中的应用[J]. *生物骨科材料与临床研究*, 2006, 3(3):47-49
14. 刘新晖, 张锡庆, 刘进炼, 等. 纳米相羟基磷灰石胶原复合材料与人骨髓基质干细胞体外相容性的研究[J]. *中华小儿外科杂志*, 2005, 26(4): 203-206
15. 杨团民, 刘淼, 杨爱玲, 等. 生物可吸收固定材料对实验性骨折愈合影响的超微结构观察[J]. *第四军医大学学报*, 2004, 25(1): 8-11
16. 关凯, 孙天胜, 时述山, 等. 纳米晶羟基磷灰石/胶原复合材料在兔腰椎横突间融合中的观察[J]. *颈腰痛杂志*, 2003, 24(4): 218-222
17. 肖建德, 朱通伯, 杜靖远, 等. 胶原羟基磷灰石 (CHA) 人工骨的研制及动物实验结果[J]. *中华骨科杂志*, 1988, 8(3):222-225
18. 肖建德, 朱通伯. 人工骨研究概况[J]. *中华骨科杂志*, 1990, 10(6):454-456
19. 沈铁城, 黄永辉, 徐晓峰, 等. 纳米晶胶原基骨材料在临床上的应用[J]. *医学研究杂志*, 2006, 35(4):70-73
20. 黄永辉, 沈铁城, 徐晓峰, 等. 纳米羟基磷灰石/胶原骨修复骨缺损的效果评估[J]. *中国临床康复*, 2006, 10(37):51-53

Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research

地址：沈阳1200邮政信箱 邮编：110004 传真：+8602423388105

投稿邮箱:kf23385083@sina.com kf22838105@sina.com kf22838106@sina.com kf22854097@sina.com

咨询电话：+86 24 23384352 +86 24 23389106 +86 24 23388105