

# 海螵蛸-骨形态发生蛋白复合材料对骨缺损大鼠成骨及再血管化的影响



刘源 于江 白洁 顾劲松 蔡斌 周霞

**【摘要】 目的** 研究海螵蛸-骨形态发生蛋白(BMP)复合材料对骨缺损大鼠成骨及再血管化的影响。**方法** 将海螵蛸去外壳,制成圆柱体(直径约 5 mm,高约 2 mm),浸泡于重组人骨形态发生蛋白 2 溶液中制作海螵蛸-BMP 复合材料。将 30 只 SD 大鼠制成颅骨缺损模型,按照随机数字表法分成海螵蛸-BMP 组与单纯海螵蛸组,每组 15 只,分别植入相应材料修复颅骨缺损。移植术后 4、6、8 周,2 组各取 5 只大鼠,分批放血处死同时进行墨汁灌注。1 d 后取出全部植入物和周围部分颅骨同时进行植入区大体观察,制作切片行 HE 及 Masson 染色,通过组织病理学技术、图像采集系统,观察、分析微血管面积和新生骨面积。对数据行两因素析因设计方差分析和 LSD 检验,并对海螵蛸-BMP 组大鼠微血管面积和新生骨面积的相关性行 Pearson 相关分析。**结果** (1)植入区大体观察可见植入物被纤维结缔组织包膜包裹,移植术后 4 周包膜质地柔软、较厚;移植术后 6、8 周包膜质韧、薄,但较致密。植入物移植术后 4 周时转为胶冻样物质,移植术后 6、8 周时与软骨组织类似。(2)组织学观察显示,移植术后 4 周,2 组大鼠植入物结构均遭到破坏,并可见中等数量的炎性细胞浸润;海螵蛸-BMP 组初级骨小梁、微血管数量明显多于单纯海螵蛸组,破骨细胞数量则少于单纯海螵蛸组。移植术后 6 周,2 组大鼠植入物炎性细胞明显减少,海螵蛸进一步降解,新生微血管更加丰富,植入物周边均形成明显的成熟骨小梁,但海螵蛸-BMP 组在降解后的海螵蛸-BMP 中也出现了成熟骨小梁。移植术后 8 周,2 组大鼠植入物炎症反应消失,成熟骨小梁显著增多,海螵蛸的网格状结构基本被破坏,单纯海螵蛸组的成熟骨小梁仍分布在海螵蛸周边;而海螵蛸-BMP 组中,海螵蛸-BMP 中央、周围均可见成熟骨小梁,微血管数量仍多于单纯海螵蛸组。(3)移植术后 4~8 周,海螵蛸-BMP 组微血管面积 [(63±4)、(136±36)、(347±31) μm<sup>2</sup>] 大于单纯海螵蛸组 [(44±7)、(73±4)、(268±42) μm<sup>2</sup>],  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ;新生骨面积 [(236±26)、(339±42)、(553±40) μm<sup>2</sup>] 大于单纯海螵蛸组 [(137±15)、(243±21)、(445±29) μm<sup>2</sup>],  $P$  值均小于 0.01。(4)海螵蛸-BMP 组微血管面积与新生骨面积呈显著正相关 ( $r = 0.948$ ,  $P = 0.001$ )。**结论** 海螵蛸-BMP 复合材料对骨缺损大鼠具有较好的成骨及再血管化作用,是骨组织工程优良的三维支架和载体材料。

**【关键词】** 骨形态发生蛋白质类; 海螵蛸; 成骨; 再血管化

**Effects of cuttlefish bone-bone morphogenetic protein composite material on osteogenesis and revascularization of bone defect in rats** LIU Yuan, YU Jiang, BAI Jie, GU Jin-song, CAI Bin, ZHOU Xia. Department of Burns and Plastic Surgery, the Second People's Hospital of Lianyungang, Lianyungang 222000, China

Corresponding author: GU Jin-song, Email: pinegu@163.com, Tel: 0411-86110424

**【Abstract】 Objective** To study the effects of cuttlefish bone-bone morphogenetic protein (BMP) composite material on osteogenesis and revascularization of bone defect in rats. **Methods** The cuttlefish bone was formed into cylinder with the diameter of about 5 mm and height of about 2 mm after the shell was removed, and then it was soaked in the recombinant human BMP 2 to make a cuttlefish bone-BMP (CBB) composite material. Thirty SD rats, with a defect of skull in every rat, were divided into the CBB and pure cuttlefish bone (PCB) groups according to the random number table, with 15 rats in each group. The rats in the group CBB and group PCB were transplanted with the corresponding material to repair the skull defect. At post transplantation week (PTW) 4, 6, and 8, 5 rats from every group were sacrificed by exsanguination, and ink perfusion was performed. One day later, all the transplants and part of the skull surrounding

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2013.06.013

作者单位:222000 江苏省连云港市第二人民医院烧伤整形科(刘源、蔡斌);大连医科大学美容医学院(于江、白洁、顾劲松);海军大连舰艇学院(周霞)

通信作者:顾劲松,Email:pinegu@163.com,电话:0411-86110424

the defect were harvested, and general observation was conducted at the same time. The specimens were paraffin sectioned for HE staining and Masson staining. The area of microvessel and the area of newborn bone were observed and analyzed through histopathological techniques and image collection system. Data were processed with the analysis of variance of factorial design and LSD test. The correlation between the area of microvessel and the area of newborn bone of the group CBB was analyzed with Pearson correlation analysis.

**Results** (1) The general observation of the transplant region showed that the transplants were encapsulated by a capsule of fibrous connective tissue. The texture of capsule was soft and relatively thick at PTW 4. The texture was tenacious and thin, but rather compact at PTW 6 and 8. The transplants became gelatinous at PTW 4, and similar to the cartilage tissue at PTW 6 and 8. (2) Histological observation showed that the structure of the transplants in two groups was damaged at PTW 4. A moderate quantity of inflammatory cell infiltration could be observed. The amounts of the primary bone trabeculae and microvessels in group CBB were more abundant than those of group PCB, while the number of osteoclasts was less than those of group PCB. At PTW 6, the inflammatory cell infiltration in the transplants in both groups decreased obviously, the cuttlefish bone was found to be further degraded, and the number of newborn microvessels was increased. There were mature bone trabeculae around the transplants in both groups. And there were also mature bone trabeculae in the degraded CBB in group CBB. At PTW 8, the inflammatory reaction in the transplants in both groups disappeared; there were more mature bone trabeculae; the structure of the cuttlefish bone was found to be damaged basically. Bone trabeculae in group PCB were found around the transplant, while the bone trabeculae could be observed not only around the transplant but also in the degraded CBB in group CBB. The amount of the microvessels in group CBB was still larger than that of group PCB. (3) From PTW 4 to 8, the area of microvessel in group CBB [ $(63 \pm 4)$ ,  $(136 \pm 36)$ ,  $(347 \pm 31) \mu\text{m}^2$ ] was larger than that in group PCB [ $(44 \pm 7)$ ,  $(73 \pm 4)$ ,  $(268 \pm 42) \mu\text{m}^2$ ,  $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ]. From PTW 4 to 8, the area of newborn bone in group CBB [ $(236 \pm 26)$ ,  $(339 \pm 42)$ ,  $(553 \pm 40) \mu\text{m}^2$ ] was larger than that in group PCB [ $(137 \pm 15)$ ,  $(243 \pm 21)$ ,  $(445 \pm 29) \mu\text{m}^2$ , with  $P$  values all below 0.01]. (4) The relation between the area of microvessel and the area of newborn bone was significantly positive ( $r = 0.948$ ,  $P = 0.001$ ). **Conclusions** The CBB may exert good effect on osteogenesis and vascularization of rats with bone defect. It is a good three dimensional scaffold in bone tissue engineering.

**【Key words】** Bone morphogenetic proteins; Cuttlefish bone; Osteogenesis; Revascularization

骨缺损的修复一直是烧伤、整形及颌面外科修复重建的热门课题,临床上常采用自体骨、异体骨移植或应用各种以陶瓷、金属、高分子材料制造的人工骨替代品进行修复重建,但都面临着数量有限,易引起并发症、后遗症及免疫排斥反应,生物相容性欠佳,质量过重,价格过高等问题。为寻求一种修复骨缺损的新型材料,本研究采用海螵蛸和骨形态发生蛋白(BMP)形成复合材料,植入骨缺损大鼠,借助组织病理学等技术,研究其成骨及再血管化的作用,以期为其作为骨替代物的临床应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物来源

健康成年清洁级 SD 大鼠 30 只,雌雄不限,体重 170 ~ 220 g,由大连医科大学动物实验中心提供。

### 1.2 主要材料

新鲜海螵蛸:市售无针乌贼内壳。重组人骨形态发生蛋白 2 (rhBMP-2) 购自北京中科物源生物技术有限公司。硫酸庆大霉素注射液购自天津药业集团新政股份有限公司。戊二醛购自天津市凯信化学工业有限公司。戊巴比妥钠购自上海易利生化试剂有限公司。甲醛购自丹东市龙海试剂厂。墨汁:市

售中华墨汁。NEX-5 型数码相机购自日本 SONY 公司。DM400013B 型正置相差显微镜和 LSA-U 3.8 型图像采集系统购自德国 LEICA 公司。

### 1.3 海螵蛸-BMP 复合材料的制备

将海螵蛸去外壳,制成圆柱体(直径约 5 mm,高约 2 mm),质量约 1 g。庆大霉素生理盐水(500 mL 生理盐水中加入硫酸庆大霉素 16 万 U)冲洗后,于 pH 值 7.4、6.5 g/L 戊二醛溶液中浸泡 10 h,换液后再浸泡 10 d,取样行细菌学检查,证实无细菌生长后冷冻干燥备用。将 10  $\mu\text{g}$  的 rhBMP-2 溶于 100 mL 生理盐水,按质量比 10 000:1<sup>[1]</sup> 将海螵蛸浸泡于 rhBMP-2 溶液 24 h,取出后低温干燥 4 h,制成海螵蛸-BMP 复合材料。

### 1.4 颅骨缺损动物模型的制作

取 30 只大鼠,术前 12 h 禁食、4 h 禁饮。乙醚诱导麻醉后,取仰卧位固定于实验操作台上,经腹腔按 40 mg/kg 剂量注射 8 g/L 的戊巴比妥钠。于大鼠颅顶正中做长约 3 cm 矢状切口,钝性分离骨膜,用牙科钻制成直径约 5 mm 的圆形骨缺损,暴露但不损伤硬脑膜。

### 1.5 分组及处理

将颅骨缺损的 30 只大鼠按随机数字表法分成

海螵蛸-BMP 组与单纯海螵蛸组, 每组 15 只, 并植入相应材料修复颅骨缺损, 逐层封闭切口, 术毕常规饲养大鼠并观察一般情况。于移植术后 4、6、8 周, 2 组各取 5 只大鼠放血处死同时行墨汁灌注, 具体操作如下。同前麻醉大鼠, 沿腹正中线做长约 5 cm 纵向切口, 游离腹主动脉和下腔静脉, 腹主动脉近端结扎、远端插管, 下腔静脉切开开放血至循环停止, 同时向动脉内注入肝素生理盐水(每 500 mL 生理盐水中加入肝素 1.25 万 U)约 50 mL 冲洗血管, 至静脉远端流出无色液体时止。再于腹主动脉注入配好的复合墨汁(墨汁、甲醛及生理盐水, 体积比 3:1:6<sup>[2]</sup>), 当肢体远端变黑时结扎静脉远、近端开口, 继续注入少量复合墨汁, 结扎动脉保持血管内压力。将大鼠置于冰箱内, -20 °C 冻存。

### 1.6 标本采集与制备

取出冻存 1 d 大鼠, 沿原切口切开颅顶皮肤, 剔除软组织, 保留骨膜及植入物表面的结缔组织包膜, 将全部植入物连同周围部分颅骨一同取下, 生理盐水冲洗, 置入体积分数 10% 甲醛溶液中固定 1 周。

将固定好的样本置于 50 g/L 乙二胺四乙酸中常规脱钙 3 d, 更换液体后继续脱钙 1 个月。乙醇梯度脱水、二甲苯透明, 石蜡包埋后切片(厚度为 5~7 μm)。

### 1.7 观察指标

**1.7.1 植入区大体观察** 于移植术后 4、6、8 周切取标本时, 肉眼观察植入物大体上有无形态上的改变, 表面有无结缔组织包裹, 周围正常组织有无感染、坏死等不良反应。

**1.7.2 组织学观察** 于移植术后 4、6、8 周, 每组各取 5 份标本, 行常规 HE、Masson 染色后正置相差显微镜下观察微血管形成、成骨、炎症反应、骨基质和骨小梁形成、植入物的降解等情况。

**1.7.3 微血管面积和新生骨面积及其相关性** 分别将 HE 染色和 Masson 染色结果用于微血管面积和新生骨面积分析。先在 100 倍光学显微镜下观察新生微血管及新生骨情况, 再转换为 400 倍视野, 每张切片选择 3 个不重叠的具有代表性的区域, 利用 Image Pro Plus 6.0 病理图像分析系统(美国 Media Cybernetics 公司)测定微血管面积和新生骨面积, 结果以平均值表示。

### 1.8 统计学处理

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS 17.0 统计软件行两因素析因设计的方差分析和 LSD 检验(软件自动略去该统计量值), 对海螵蛸-BMP 组大鼠微血管面积和新生骨面积之间的相关性行 Pearson 相关分析,

$P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 一般情况及植入区大体观察

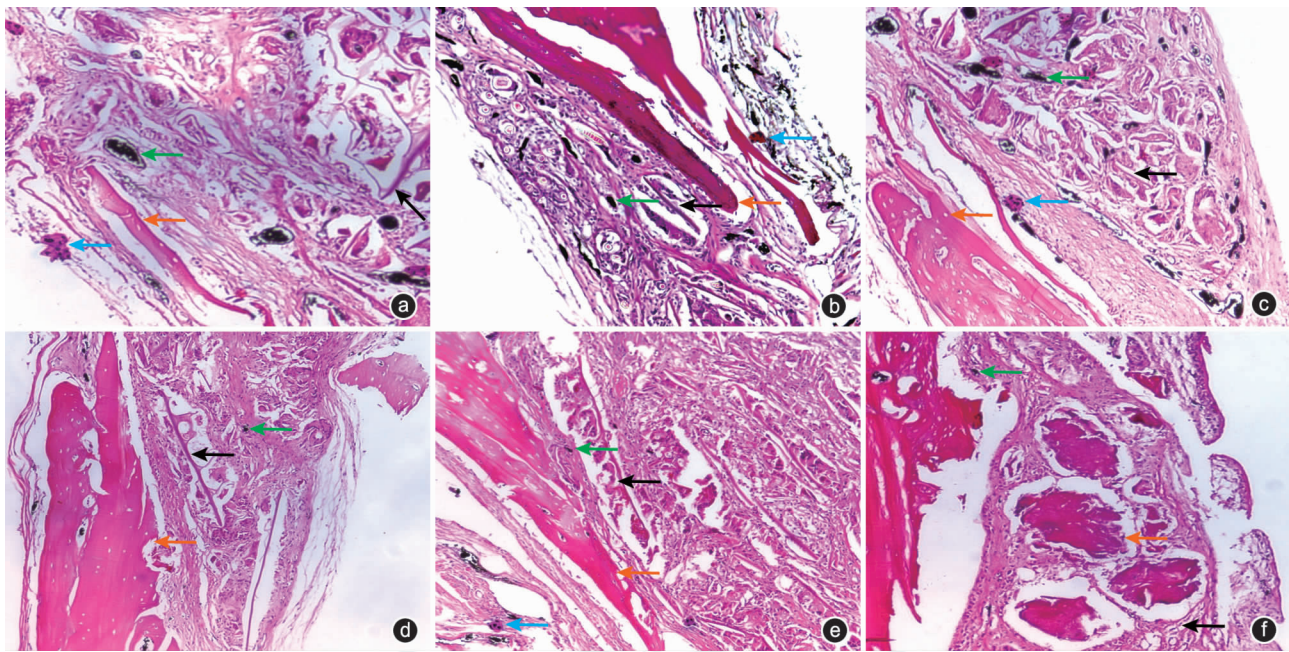
2 组大鼠移植术后当天懒动, 饮食减少, 次日恢复正常。切口无感染, 2 周后愈合。

移植术后 4、6、8 周, 2 组大鼠取样时均可见周围正常组织被墨汁黑染, 未见坏死、化脓及硬结等不良反应, 生理盐水冲洗后, 可见植入物表面墨染的骨膜血管网。植入物无移位, 被纤维结缔组织包膜包裹, 移植术后 4 周包膜质地柔软、较厚; 移植术后 6、8 周时包膜质韧、薄, 但较致密。海螵蛸原为固态空腔松质材料, 移植术后 4 周为胶冻样物质, 移植术后 6、8 周与软骨组织类似。

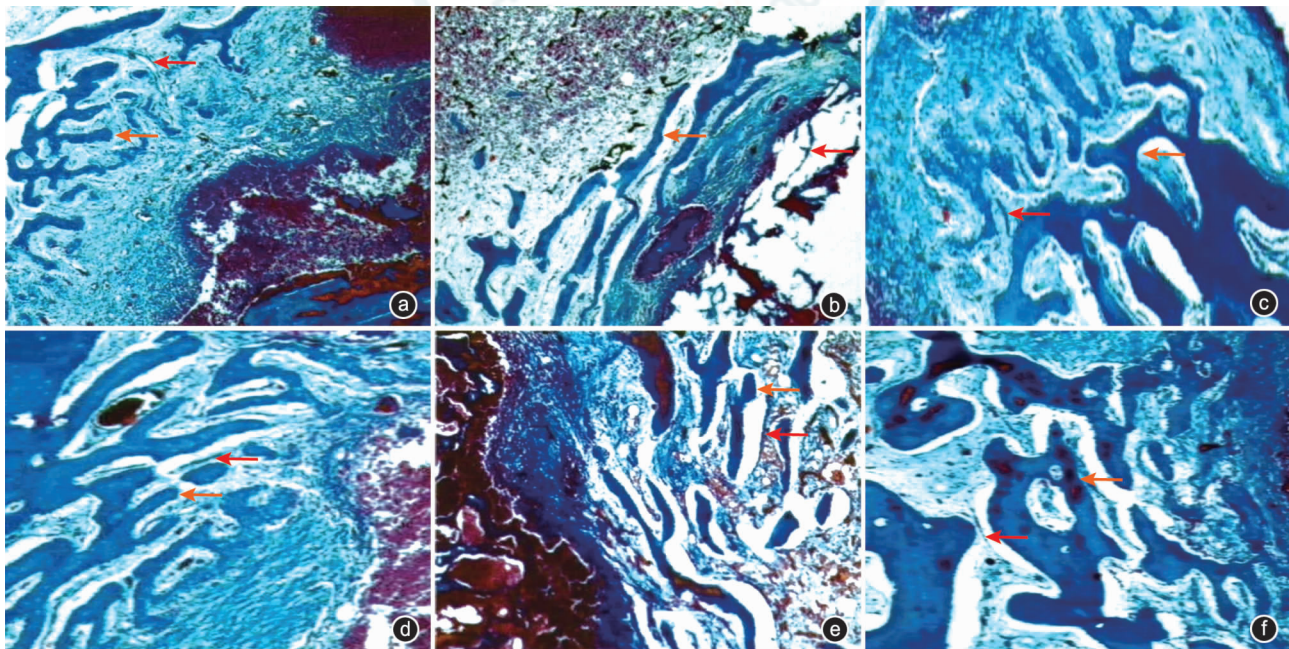
### 2.2 组织学观察

HE 染色显示: 移植术后 4 周, 2 组大鼠植入物中均可见中等数量的淋巴细胞及中性粒细胞浸润, 炎症反应小于 III 级<sup>[3]</sup>, 增生纤维结缔组织开始破坏海螵蛸三维网状结构, 植入物周边均形成初级骨小梁, 均出现新生微血管。单纯海螵蛸组中尚清晰可见粗大海螵蛸支柱和网格状结构, 网格中仅见少量骨基质样组织; 海螵蛸-BMP 组中海螵蛸-BMP 仅见边缘粗大的支柱结构, 网格状结构较模糊, 网格中充满骨基质样组织及较多成骨细胞。海螵蛸-BMP 组初级骨小梁明显多于单纯海螵蛸组, 破骨细胞则少于单纯海螵蛸组。移植术后 6 周, 2 组大鼠植入物中炎性细胞明显减少, 仅可见少量淋巴细胞及中性粒细胞, 未见巨噬细胞, 炎症反应小于 II 级, 海螵蛸进一步降解, 新生微血管更加丰富。单纯海螵蛸组海螵蛸周边形成明显的成熟骨小梁, 纤维组织中可见到破骨细胞; 海螵蛸-BMP 组在降解后的海螵蛸-BMP 周围及中央出现大片状成熟骨小梁, 骨小梁中可见明暗相间较规律的网格状结构。移植术后 8 周, 2 组大鼠植入物中炎症反应均消失, 成熟骨小梁显著增多、连接成片, 海螵蛸的网格状结构基本被破坏, 仅局部残余少许支柱结构。单纯海螵蛸组成熟骨小梁仍分布在海螵蛸周边; 海螵蛸-BMP 组不仅在降解的海螵蛸-BMP 中有大片状成熟骨小梁(可见明暗相间网格状结构), 周边纤维组织中亦可见团块状成熟骨小梁。移植术后 4~8 周, 海螵蛸-BMP 组微血管数量均多于单纯海螵蛸组。见图 1。

Masson 染色也显示: 移植术后 4、6、8 周, 海螵蛸-BMP 组骨小梁数量均明显多于单纯海螵蛸组。见图 2。



**图 1** 2 组颅骨缺损大鼠植入海螵蛸-骨形态发生蛋白(BMP)与单纯海螵蛸修复后 4~8 周的 HE 染色观察 HE ×400。a. 移植术后 4 周, 单纯海螵蛸组海螵蛸(←)周围可见初级骨小梁(←)及破骨细胞(←), 出现新生微血管(←); b. 移植术后 4 周, 海螵蛸-BMP 组初级骨小梁(←)位于海螵蛸-BMP(←)周围且明显多于单纯海螵蛸组, 微血管(←)数量亦明显多于单纯海螵蛸组, 破骨细胞(←)少于单纯海螵蛸组; c. 移植术后 6 周, 单纯海螵蛸组海螵蛸(←)周围可见少许成熟骨小梁(←)及破骨细胞(←), 微血管(←)进一步丰富; d. 移植术后 6 周, 海螵蛸-BMP 组未见破骨细胞, 海螵蛸-BMP 中央(←)可见成熟骨小梁(←), 微血管(←)数量仍多于单纯海螵蛸组; e. 移植术后 8 周, 单纯海螵蛸组海螵蛸(←)基本被破坏, 骨小梁(←)较移植术后 6 周进一步增多且位于海螵蛸(←)周围, 微血管(←)数量仍少于海螵蛸-BMP 组; f. 移植术后 8 周, 海螵蛸-BMP 组成熟骨小梁(←)较移植术后 6 周进一步增多, 海螵蛸-BMP(←)中央、周围均可见, 微血管(←)数量丰富



**图 2** 2 组颅骨缺损大鼠植入海螵蛸-骨形态发生蛋白(BMP)与单纯海螵蛸修复后 4~8 周的 Masson 染色观察 Masson ×1000。a. 移植术后 4 周, 单纯海螵蛸组初级骨小梁(←)位于海螵蛸(←)周围; b. 移植术后 4 周, 海螵蛸-BMP 组初级骨小梁(←)位于海螵蛸-BMP(←)周围, 但明显多于单纯海螵蛸组; c. 移植术后 6 周, 单纯海螵蛸组新生骨小梁(←)进一步增多, 仍位于海螵蛸(←)周围; d. 移植术后 6 周, 海螵蛸-BMP 组新生骨小梁(←)进一步增多, 海螵蛸-BMP(←)中央也可见, 且明显多于单纯海螵蛸组; e. 移植术后 8 周, 单纯海螵蛸组成熟骨小梁(←)连接成片, 仍位于海螵蛸(←)周围; f. 移植术后 8 周, 海螵蛸-BMP 组海螵蛸-BMP(←)中央、周围均可见成熟骨小梁(←)连接成团块状, 且明显多于单纯海螵蛸组

### 2.3 微血管面积

与单纯海螵蛸组相比,移植术后 4~8 周海螵蛸-BMP 组微血管面积较大 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。见表 1。

表 1 2 组大鼠移植术后各时相点微血管面积 ( $\mu\text{m}^2$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数(只)	术后 4 周	术后 6 周	术后 8 周
海螵蛸- 骨形态发生蛋白组	15	63 $\pm$ 4	136 $\pm$ 36	347 $\pm$ 31
单纯海螵蛸组	15	44 $\pm$ 7	73 $\pm$ 4	268 $\pm$ 42
<i>P</i> 值		<0.05	<0.001	<0.001

注: *P* 值为组间各时相点比较所得;处理因素主效应,  $F = 28.75$ ,  $P < 0.05$ ;时间因素主效应,  $F = 297.80$ ,  $P < 0.05$ ;两者交互作用,  $F = 2.47$ ,  $P > 0.05$

### 2.4 新生骨面积

与单纯海螵蛸组相比,移植术后 4~8 周海螵蛸-BMP 组新生骨面积较大。组间各时相点比较,差异均有统计学意义 (*P* 值均小于 0.01)。见表 2。

表 2 2 组大鼠移植术后各时相点新生骨面积 ( $\mu\text{m}^2$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数(只)	术后 4 周	术后 6 周	术后 8 周
海螵蛸- 骨形态发生蛋白组	15	236 $\pm$ 26	339 $\pm$ 42	553 $\pm$ 40
单纯海螵蛸组	15	137 $\pm$ 15	243 $\pm$ 21	445 $\pm$ 29
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注: *P* 值为组间各时相点比较所得;处理因素主效应,  $F = 58.05$ ,  $P < 0.05$ ;时间因素主效应,  $F = 205.09$ ,  $P < 0.05$ ;两者交互作用,  $F = 0.15$ ,  $P > 0.05$

### 2.5 海螵蛸-BMP 组微血管面积与新生骨面积关系

海螵蛸-BMP 组微血管面积与新生骨面积呈显著正相关 ( $r = 0.948$ ,  $P = 0.001$ ), 直线方程为  $Y = 183.49 + 1.06X$ , 其中自变量 *X* 为微血管面积, 因变量 *Y* 为新生骨面积。见图 3。

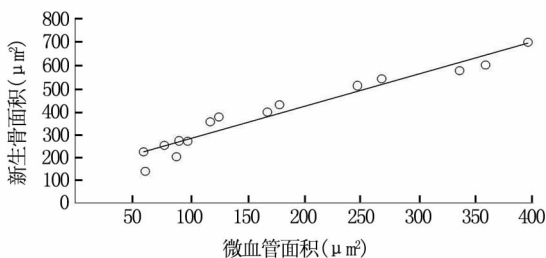


图 3 海螵蛸-骨形态发生蛋白组大鼠 15 个植入物标本微血管面积与新生骨面积呈显著正相关,  $r = 0.948$ ,  $P = 0.001$

## 3 讨论

众所周知,三维支架材料、种子细胞和成骨因子是组织工程骨的三大核心问题。大量研究证实,

BMSC 是良好的种子细胞,在生长因子的诱导下,能够成功分化为成骨细胞<sup>[4-5]</sup>。BMP 诱导骨再生的强大生物活性已得到大量科学研究的证实并已广泛应用于临床<sup>[5-7]</sup>。理想的三维支架和药物传递材料已成为骨组织工程中最突出、最关键的问题。

天然资源因可从价廉易获取的材料转化为生物医学产品,而越来越受到人们的重视。Kim 等<sup>[4]</sup>用生骨培养基刺激,在海螵蛸上培养人间充质干细胞,细胞生长良好,分布与海螵蛸外形一致。细胞在海螵蛸的腹部区比背部区,容易渗透到叶片区域更深的内部三维空间,在这 2 个区域培养的人间叶干细胞,其碱性磷酸酶活性及 mRNA 表达增强, I 型胶原增加。提示海螵蛸具有良好的生物相容性,是理想的骨再生支架材料。鉴于此,结合海螵蛸和 BMP 的生物学特性,推测将海螵蛸与 BMP 结合制成具有诱导活性的复合材料应该可行。有学者尝试将海螵蛸与 BMP 制成复合材料,在大鼠股四头肌内诱导异位成骨,用于修复大鼠胫骨骨折<sup>[8]</sup>。但对海螵蛸-BMP 复合材料用于修复颅骨缺损并对其成骨和血管化作用进行系统研究目前鲜见报道。

血管化是骨组织工程中的一个关键因素。有研究显示,在自体骨移植修复大块骨缺损中, BMP 与再血管化及骨再生呈现正相关关系<sup>[9]</sup>。本研究中,各时相点海螵蛸-BMP 组微血管面积都显著高于单纯海螵蛸组,移植术后 6、8 周更为明显,表明 BMP 有促进海螵蛸再血管化的作用,早期更为突出。各时相点海螵蛸-BMP 组新生骨面积都显著大于单纯海螵蛸组。海螵蛸-BMP 组与单纯海螵蛸组相比,成骨时间更早,成骨量也更多,2 组均可观察到由海螵蛸引导的传导成骨,即新生骨小梁主要位于植入物周边。但在海螵蛸-BMP 组中,新生骨小梁主要分布在降解后的海螵蛸网格状结构中,与 Kim 等<sup>[4]</sup>的研究结果一致。由于海螵蛸的成骨作用很弱<sup>[10]</sup>,一般认为海螵蛸仅具有传导成骨作用,新生骨主要位于植入物与缺损区交界处。

本研究中,单纯海螵蛸组移植术后 4~8 周在初级骨小梁和成熟骨小梁中始终未见海螵蛸的网格状结构,支持上述观点。海螵蛸-BMP 组 BMP 的诱导成骨作用主要发生在移植术 6 周以后,移植术后 4 周时新生骨小梁只是位于海螵蛸-BMP 周围,而移植术后 6、8 周的成熟骨小梁中降解后的海螵蛸网格状结构清晰可见,提示形成的大片状骨小梁是 BMP 诱导成骨的结果。此外,单纯海螵蛸组移植术后 4、6、8 周均可见破骨细胞,随时间延长逐渐减少;海螵

蛸-BMP 组中仅在移植术后 4 周偶见破骨细胞。说明单纯植入海螵蛸时成骨和破骨作用均活跃,随着愈合时间延长,成骨作用逐渐增强,破骨作用逐渐减弱;而海螵蛸-BMP 组一直以成骨作用为主导,提示在 BMP 参与下,海螵蛸-BMP 复合材料发挥了促进成骨、抑制破骨的作用,这可能也是海螵蛸-BMP 组成骨时间早、成骨量多的原因之一。

本研究显示新生微血管面积越大,则新生骨的面积也越大,两者呈正相关,与文献报道<sup>[11]</sup>一致。海螵蛸丰富的微孔空间和表面积可以携带更多的种子细胞和成骨因子,不仅是理想的三维支架,也是良好的药物传递材料,用于修复动物颅骨或扁骨缺损具有良好前景。理论上,随着海螵蛸的降解,BMP 也逐渐释放殆尽,不会引起过度成骨。本研究中,移植术后 8 周时海螵蛸-BMP 组新生骨小梁已连接成片,海螵蛸的网格状结构基本被破坏,仅局部残余少许支柱结构。在移植术后 8 周的观察期内未看到过度成骨,但远期是否出现过度成骨、缺损区修复后的稳定性、应力应变、压缩、弯曲、折断韧性等尚需大样本、大型动物及长时间进一步研究。另外,将海螵蛸作为 BMP 的缓释系统,其吸附率、释放率、释放时间、活性维持时间等也需进一步系统研究。

#### 参考文献

- [1] Sorensen RG, Wikesjö UM, Kinoshita A, et al. Periodontal repair

in dogs: evaluation of a bioresorbable calcium phosphate cement (Ceredex) as a carrier for rhBMP-2. J Clin Periodontol, 2004, 31 (9):796-804.

- [2] 崔成立, 杜颀, 刘秀清. 活体墨汁灌注和软蜡厚切片在实验研究中的应用. 包头医学院学报, 2004, 20(4):280-281.
- [3] Kolambkar YM, Dupont KM, Boerckel JD, et al. An alginate-based hybrid system for growth factor delivery in the functional repair of large bone defects. Biomaterials, 2011, 32(1):65-74.
- [4] Kim BS, Kim JS, Sung HM, et al. Cellular attachment and osteoblast differentiation of mesenchymal stem cells on natural cuttlefish bone. J Biomed Mater Res A, 2012, 100(7):1673-1679.
- [5] 廖新根, 吴梨华, 付明福, 等. BMP-2 联合低氧环境诱导 BMSCs 向软骨表型化分化的研究. 中国修复重建外科杂志, 2012, 26(6):743-748.
- [6] Cai J, Pardali E, Sánchez-Duffhues G, et al. BMP signaling in vascular diseases. FEBS Lett, 2012, 586(14):1993-2002.
- [7] Wei S, Cai X, Huang J, et al. Recombinant human BMP-2 for the treatment of open tibial fractures. Orthopedics, 2012, 35(6):e847-854.
- [8] 沈霖, 扬家玉, 杨艳萍, 等. 海螵蛸/骨形态发生蛋白质复合材料的研制及其诱导成骨实验研究. 中国中医骨伤科杂志, 1993, 1(4):1-4.
- [9] De Marco AC, Jardini MA, Modolo F, et al. Immunolocalization of bone morphogenetic protein 2 during the early healing events after guided bone regeneration. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol, 2012, 113(4):533-541.
- [10] 沈亚芬, 沈金根, 朱曙东. 中药海螵蛸药理作用研究进展. 中国药业, 2010, 19(10):87-88.
- [11] Raoul G, Myon L, Chai F, et al. Engineering a bone free flap for maxillofacial reconstruction: technical restrictions. Rev Stomatol Chir Maxillofac, 2011, 112(4):249-261.

(收稿日期:2012-12-24)

(本文编辑:贾津津)

## · 科技快讯 ·

### 姜黄素:一种控制烧伤疼痛及促进创面愈合的新药物

烧伤导致的疼痛及创面的处理,仍是目前临床面临的主要难题。使用阿片类药物、非甾体抗炎药、抗抑郁药和抗惊厥药,仍是常用的镇痛方法。然而,这些药物的长期使用常导致剂量升级及严重的不良反应。此外,严重烧伤创面不仅易形成瘢痕且容易感染。最近的研究结果表明,姜黄中的主要生物活性成分——姜黄素,不仅能控制严重烧伤后产生的疼痛而且能促进创面愈合。对于需要长时间愈合的烧伤创面,在充分控制疼痛的同时还需要促进创面愈合,然而临床上还没有令人满意的方法,姜黄素的应用也许能解决这一难题。

文帅,编译自《Expert Opin Investig Drugs》,2013,22(10):1295-1303;吴军,审校

## · 产品信息 ·

### 海肤康人工皮肤

海肤康人工皮肤是以甲壳胺为主要原料制成的烧伤创面覆盖材料。透气、透湿,结构强度高,生物相容性好。具有保护创面、促进皮肤细胞增殖的作用。使用方法简单,无需更换,创面愈合后自行脱落。愈合创面平整,少留瘢痕,无过敏和排斥反应。适应证:(1)供皮区创面;(2)浅Ⅱ度烧伤创面;(3)深Ⅱ度脱痂或削痂创面;(4)网状植皮和小皮片(或条状)植皮创面;(5)后期残余小创面。禁忌证:详见说明书。注册证号:琼食药监械(准)字 2008 第 2640010 号。生产企业:海南民福药业公司,地址:海南省海口市海府路 22 号,邮编:570203。电话:0898-66726088,网址:www.hyphencan.com。免费咨询电话:如果您有任何关于海肤康的事宜,请拨打 13807691273,听到“嘟”音后即挂机,我们会立刻给您回电话。恭候垂询!

海肤康人工皮肤诚招省级区域总代理

海南民福药业公司