

聚乳酸-乙醇酸共聚物-磷酸三钙-骨形态发生蛋白2人工骨结合肌肉移植修复骨缺损*☆

徐建强, 周密, 张树明, 李长庚, 杨飞, 孙锁柱, 王长江, 王克利

Poly(lactide-co-glycolic acid)-tricalcium phosphate-bone morphogenetic protein-2 artificial bone combined with muscle transplantation for repair of bone defects

Xu Jian-qiang, Zhou Mi, Zhang Shu-ming, Li Chang-geng, Yang Fei, Sun Suo-zhu, Wang Chang-jiang, Wang Ke-li

Abstract

BACKGROUND: Large segmental bone defects are mostly repaired by bone graft. If the tissue with blood life and artificial bone were simultaneously implanted into bone defects, which are theoretically more conducive to the construction of new tissue blood life and reconstruction of artificial bone creeping substitution.

OBJECTIVE: To observe the effects of the composite of poly(lactide-co-glycolic acid)-tricalcium phosphate-bone morphogenetic protein-2 (PLGA-TCP-BMP-2) artificial bone combined with vascularized muscle transplantation in repairing the large segmental defect.

METHODS: A 30 mm defect was made in large segment of sheep's radius. The experiment was randomly divided into 3 groups. Experimental group was implanted into PLGA-TCP-BMP-2 artificial bone and vascularized long flexor of digits; control group was only implanted into PLGA-TCP-BMP-2 artificial bone; no material was implanted into blank group. Plates were used to fix the bone in 3 groups, and then underwent X ray detection and histological observation at 24 weeks after operation.

RESULTS AND CONCLUSION: Bone defect of radius was fully repaired with clear contour of cortical bone and medullary cavity, callus was mature lamellar bone in experimental group. While in control group, the contour was not as clearly as in experimental group. No effective callus was found and the defect area filled with abundant fibrous tissue in blank group. PLGA-TCP-BMP-2 artificial bone combined with vascularized muscle transplantation can repair large segmental defect of 30 mm sheep's radius satisfactorily.

Xu JQ, Zhou M, Zhang SM, Li CG, Yang F, Sun SZ, Wang CJ, Wang KL. Poly(lactide-co-glycolic acid)-tricalcium phosphate-bone morphogenetic protein-2 artificial bone combined with muscle transplantation for repair of bone defects. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(34): 6281-6284. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 大段骨缺损修复多以植骨为主, 如果能将带血运的组织与人工骨同时植入, 理论上更有利于新生组织血运建立及人工骨的爬行替代重建。

目的: 观察聚乳酸-乙醇酸共聚物-磷酸三钙-骨形态发生蛋白2人工骨结合自体带血供自体肌肉移植修复大段骨缺损的效果。

方法: 手术造成30 mm 绵羊大段桡骨缺损, 抽签随机分为3组: 实验组植入聚乳酸-乙醇酸共聚物-磷酸三钙-骨形态发生蛋白2人工骨及自体带血运的屈指长肌, 对照组仅植入聚乳酸-乙醇酸共聚物-磷酸三钙-骨形态发生蛋白2人工骨, 空白对照组未植入任何材料。3组均以钢板固定骨缺损区, 术后24周进行X射线检测及组织学观察。

结果与结论: 实验组桡骨缺损处完全成骨修复, 皮质骨与髓腔轮廓清晰, 骨痂为较成熟板层骨; 对照组骨缺损基本完全修复, 但新生骨密度及髓腔轮廓清晰度及骨痂成熟度均不如实验组; 空白对照组无有效骨痂形成, 缺损区被大量纤维组织填充。说明聚乳酸-乙醇酸共聚物-磷酸三钙-骨形态发生蛋白2人工骨结合自体带血供肌肉移植能够很好修复绵羊桡骨30 mm的大段骨缺损。

关键词: 骨形态发生蛋白2; 聚乳酸-乙醇酸共聚物; 磷酸三钙; 肌肉移植; 骨缺损

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.34.003

徐建强, 周密, 张树明, 李长庚, 杨飞, 孙锁柱, 王长江, 王克利. 聚乳酸-乙醇酸共聚物-磷酸三钙-骨形态发生蛋白2人工骨结合肌肉移植修复骨缺损[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(34):6281-6284.

[http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

目前在临床上大段骨缺损的处理手段以植骨为主, 人工骨及高分子材料具有良好的组织相容性, 一些材料可以在体内降解, 复合骨形态发生蛋白等活性因子后也可表现出成骨活性, 因此具有良好的应用前景^[1-3]。利用带血肌肉修复骨缺损可提供丰富的血液供应, 并且有

取材方便, 排斥反应小等优点, 如果能将带血运的组织与人工骨同时植入, 理论上更有利于新生组织血运建立以及人工骨的爬行替代重建。

本实验拟以羊为实验动物, 将基因重组人骨形态发生蛋白2(bone morphogenetic protein, BMP-2)复合聚乳酸-乙醇酸共聚物(poly-lactide-co-glycolic, PLGA)/磷酸三钙(tricalcium phosphate, TCP)人工骨及带血运的屈指长肌共同植入桡骨大段缺损区, 对照观

Department of Orthopaedics, Second Artillery General Hospital of PLA, Beijing 100088, China

Xu Jian-qiang☆, Doctor, Associate chief physician, Department of Orthopaedics, Second Artillery General Hospital of PLA, Beijing 100088, China

Zhou Mi☆, Doctor, Attending physician, Department of Orthopaedics, Second Artillery General Hospital of PLA, Beijing 100088, China
mimizhou1975@yahoo.com.cn

Xu Jian-qiang and Zhou Mi contributed equally to this paper.

Correspondence to: Zhang Shu-ming, Professor, Master's supervisor, Department of Orthopaedics, Second Artillery General Hospital of PLA, Beijing 100088, China
zsmep@tom.com

Supported by: "Tenth Five-Year" Medical Scientific Research Foundation of PLA, No. 06G018*

Received: 2010-12-17
Accepted: 2011-02-07

解放军第二炮兵总医院骨科, 北京市 100088

徐建强☆, 男, 1968年生, 山西省万荣市人, 汉族, 副主任医师, 博士, 主要从事创伤外科, 显微外科研究。

并列第一作者: 周密☆, 男, 1975年生, 辽宁省辽阳市人, 汉族, 2009年解放军军医进修学院毕业, 博士, 主治医师, 主要从事关节外科、运动医学研究。mimizhou1975@yahoo.com.cn

通讯作者: 张树明, 教授, 硕士生导师, 解放军第二炮兵总医院骨科, 北京市 100088 zsmep@tom.com

中图分类号: R318
文献标识码: A
文章编号: 1673-8225 (2011)34-06281-04

收稿日期: 2010-12-17
修回日期: 2011-02-07 (20101125013/GW·L)

察人工骨植入后的吸收与改建情况。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 于2009-04/2010-06在中国农业大学实验动物中心完成。

材料: 成年蒙古山羊18只, 雌雄不拘, 体质量21~24 kg, 由中国农业大学实验动物中心提供, 许可证号: 20090408010。

人工骨材料: PLGA-TCP-BMP-2材料由中科院化学所提供。将PLGA和TCP按1:1比例加工成长30 mm、直径8 mm、孔隙大小500 μm × 500 μm, 孔隙率为50%的圆柱状三维立体多孔框架结构, 形成载体。按每块材料2 mg BMP-2比例, 通过负压方法复合BMP-2, 制备成长段状的 PLGA-TCP-BMP-2大段仿生活性人工骨, 环氧乙烷消毒备用。

实验方法:

模型制作及动物分组: 将18只成年蒙古绵羊抽签随机分为3组, 每组6只。实验组截除右前肢尺、桡骨中上段30 mm造成骨缺损, 于桡骨缺损区植入PLGA-TCP-BMP-2人工骨棒材, 并游离支配屈指长肌的主要动脉, 自肌腱-肌腹交界处切断屈指长肌, 注意完整保留供应动脉, 将带血供的肌肉向桡骨缺损区推移植入, 靠紧人工骨并捆扎固定; 对照组截除右前肢尺、桡骨中上段30 mm, 植入PLGA-TCP-BMP-2人工骨棒材; 空白对照组截除右前肢桡骨中上段30 mm造成骨缺损, 缺损区未植入任何材料。3组动物均以普通钢板固定桡骨缺损区, 缝合肌膜和皮肤, 患肢不行外固定。术后相同条件饲养。

主要观察指标: ①大体观察: 术后动物的饮食、活动及伤口情况。②X射线检查: 手术当天及术后24周对动物右前肢行X射线摄片检查, 观察骨缺损的修复情况。③组织学检查: 术后24周处死各组动物, 取材后用体积分数10%的中性甲醛固定, 常规脱钙、脱水、石蜡包埋。切片行苏木精-伊红染色, 光镜观察。

2 结果

2.1 大体观察 全部动物均进入结果分析, 术后第2天饮食恢复正常, 术后2周伤口愈合, 实验组、对照组动物术后4~6周患肢基本行动自如, 无明显跛行; 空白对照组动物术后24周仍

有不同程度跛行, 1只因感染出现伤口破溃及内固定物外露。

2.2 各组术后24周X射线检查结果 术后24周时, 实验组桡骨缺损处完全成骨修复, 内、外侧新生皮质骨致密, 髓腔轮廓清晰, 见图1a。对照组骨痂增生将桡骨缺损处完全填充修复, 可见外侧骨皮质与骨髓腔的轮廓, 但骨质密度和清晰度不如实验组, 见图1b。空白对照组断端骨痂生长, 但无有效连接, 断端未见明显密度增高, 固定钢板均出现不同程度的弯曲, 见图1c。

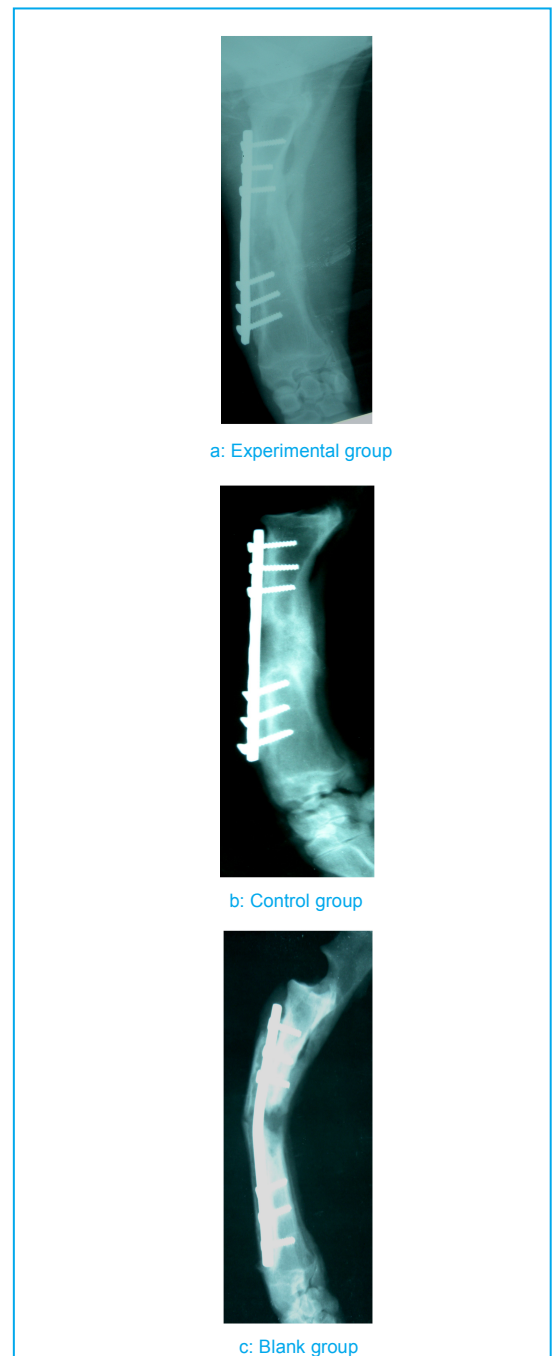
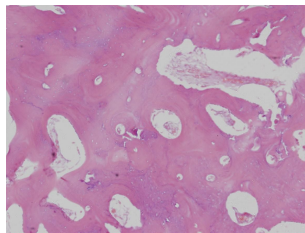
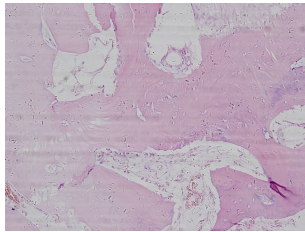


Figure 1 X ray of animals in each group at 24 wk after operation
图1 各组术后24周X射线观察结果

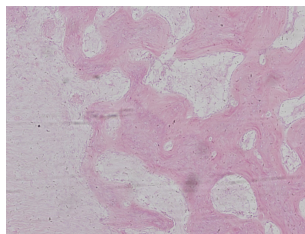
2.3 各组术后24周组织学检查结果 术后24周时, 实验组骨痂均为较成熟的板层骨, 骨陷窝内层可见串状排列的成骨细胞; 新生骨与断端皮质骨完全融合, 其内可见较为成熟的骨髓组织, 未见人工骨材料或肌肉纤维残留, 见图2a。对照组新生板层骨及骨陷窝排列较为紊乱, 亦可见成骨细胞及骨髓组织, 见图2b; 空白对照组术后24周时骨缺损区有大量排列紊乱的结缔组织充填, 骨小梁稀疏, 无明显骨坏死表现, 见图2c。



a: Experimental group



b: Control group



c: Blank group

Figure 1 Histological findings of animals in each group at 24 wk after operation (Hematoxylin-eosin staining $\times 20$)

图1 各组术后24周组织学检查结果(苏木精-伊红染色, $\times 20$)

本实验显示, 对于绵羊桡骨30 mm的骨缺损, 术后24周时植入带血运的自体肌肉及人工骨较单纯植入人工骨的骨痂更为致密, 皮质骨与髓腔轮廓更为清晰, 板层骨更为成熟, 这说明PLGA-TCP-BMP-2人工骨及带血运的肌肉共同植入后, 可以更有效地完成新生骨的爬行替代。

BMP的主要生物学作用是诱导未分化的间充质细胞分化形成软骨与骨, 由于BMP是活性很高的生长因子, 用量一般很少, 通常以mg、 μg 为单位, 单独植入体内后很容易被稀释、分解、吸收, 不能长久有效的刺激靶细胞, 所以单独局部使用疗效并不理想, 因此, 通常情况下骨形态发生蛋白都是与各种形式的载体复合应用^[2-4]。本实验中, 作者选用生物相容性好、可吸收的PLGA-TCP为载体, 结果显示该人工材料复合重组BMP-2后的成骨效果较好。

理想的骨替代材料(骨支架)应具有以下特性: ①良好的生物相容性。②满足生物力学的要求。③可以降解, 且降解过程中不会发生塌陷。④可作为具有骨诱导和成骨作用的“种植物”的载体。PLGA是目前组织工程材料中深受重视的材料, 生物相容性好, 降解速度快, 无残留材料, 缺点是过早降解容易引起载体材料的变形^[5-21]。因此本实验以TCP和PLGA复合物为载体材料, 避免了单纯聚乙醇酸降解过快、强度较差的缺点。从实验结果看, 人工骨植入后成骨效果较为满意, 术后24周无人工材料残留, 说明PLGA-TCP-BMP-2是一种较为理想的骨缺损修复材料。

本实验将自体带血供肌肉组织移植与复合BMP的人工骨共同植入重建较长段的骨缺损, 既解决了缺损区所需骨量较大需要填充支撑的问题, 也解决了自体组织爬行替代人工骨时间较长、血管化过程缓慢的问题。就作者所掌握的资料, 目前尚无同样设计及相关报道。从放射学和组织学结果看, 人工骨与自体肌肉共同植入的组别成骨效果优于对照组, 说明本设计具备一定合理性和可行性。

本实验的不足之处: 未能观察各组动物在不同时间节点成骨变化情况; 没有进行直观的新生血管标记分析。这些是在后续研究中需补充完善的内容。

3 讨论

利用带血供肌肉修复骨缺损优势明显: ①提供丰富的血液供应。②取材方便、无排斥反应之虑。研究发现通过这种方法来修复骨缺损, 可达到满意的效果。而在临床上, 骨折端发生肌肉嵌压常造成骨不愈合^[1]。在本实验中作者采用临近保留血运的自体肌肉移植植入骨缺损并紧贴人工骨共同植入骨缺损区, 其优点是利于人工骨的血管化, 同时具有支撑作用; 由于BMP的诱导分化作用, 可能促使肌肉组织中的干细胞向骨细胞分化。

4 参考文献

- [1] Wei KH, Pei GX, Jin D, et al. Zhonghua Xianwei Waikē Zazhi. 2004; 27(3):205-206. 魏宽海, 裴国献, 金丹, 等. 肌瓣复合骨形态发生蛋白修复骨缺损中骨髓肌的转归[J]. 中华显微外科杂志, 2004, 27(3):205-206.
- [2] Xu JQ, Hu YY, Sun L, et al. Zhongguo Linchuang Kangfu. 2005; 9(34): 50-52. 徐建强, 胡蕴玉, 孙梁, 等. 重组人骨形态发生蛋白-2与卵磷脂复合材料修复兔长骨节段性骨缺损[J]. 中国临床康复, 2005, 9(34): 50-52.
- [3] Xu JQ, Hu YY, Sun L, et al. Zhongguo Jiaoxing Waikē Zazhi. 2002; 9(6):583-586. 徐建强, 胡蕴玉, 孙梁, 等. rhBMP-2/卵磷脂复合材料修复犬长骨节段性骨缺损的实验研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2002, 9(6):583-586.
- [4] Ripamonti U, Petit JC. Bone morphogenetic proteins, cementogenesis, myoblastic stem cells and the induction of periodontal tissue regeneration. Cytokine Growth Factor Rev. 2009; 20(5-6):489-499.

- [5] Shirasu N, Ueno T, Hirata Y, et al. Bone formation in a rat calvarial defect model after transplanting autogenous bone marrow with beta-tricalciumphosphate. *Acta Histochem.* 2010;112(3):270-277.
- [6] Chazono M, Tanaka T, Komaki H, et al. Bone formation and bioresorption after implantation of injectable beta-tricalcium phosphate granules-hyaluronate complex in rabbit bone defects. *J Biomed Mater Res A.* 2004;70(4):542-549.
- [7] Kondo N, Ogose A, Tokunaga K, et al. Bone formation and resorption of highly purified beta-tricalcium phosphate in the rat femoral condyle. *Biomaterials.* 2005;26(28):560-568.
- [8] Ogose A, Kondo N, Umezumi H, et al. Histological assessment in grafts of highly purified beta-tricalcium phosphate (OSferions) in human bones. *Biomaterials.* 2006;27(8): 1542-1549.
- [9] Ohsawa K, Neo M, Matsuoka H, et al. The expression of bone matrix protein mRNAs around beta-TCP particles implanted into bone. *J Biomed Mater Res.* 2000;52(3):460-466.
- [10] Xu JQ, Hu YY, Zhang X, et al. *Zhonghua Chuangshang Guke Zazhi.* 2005;7(9):840-844.
徐建强, 胡蕴玉, 张超, 等. 大段仿生活性人工骨修复兔长骨缺损的实验研究[J]. *中华创伤骨科杂志.* 2005;7(9):840-844.
- [11] Xu JQ, Hu YY, B JP, et al. *Zhongguo Linchuang Kangfu.* 2002; 6(2): 192-193.
徐建强, 胡蕴玉, 白建萍, 等. 检测rhBMP-2/明胶复合材料的诱导成骨活性: 修复兔长骨缺损的实验研究[J]. *中国临床康复.* 2002;6(2): 192-193.
- [12] Xu JQ, Zhang SM, Wang LM, et al. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu.* 2007;11(26):5066-5069.
徐建强, 张树明, 王烈明, 等. 聚己内酯-聚乙二醇共聚物复合骨细胞构建组织工程化软骨[J]. *中国组织工程与临床康复.* 2007;11(26): 5066-5069.
- [13] Xiao JD, Xiong JY, Ou YK, et al. *Zhonghua Chuangshang Waik Zazhi.* 2006;8(11):1048-1052.
肖建德, 熊建义, 欧阳侃, 等. 纳米陶瓷人工骨修复骨缺损的实验研究[J]. *中华创伤外科杂志.* 2006, 8(11):1048-1052.
- [14] Chen G, Li DZ, Wan H, et al. *Zhonghua Shenjing Waik Zazhi.* 2007; 23(1):60-62.
陈刚, 李德志, 万虹, 等. 组织工程材料PLGA与组织细胞生物相容性的体内实验研究[J]. *中华神经外科杂志.* 2007, 23(1):60-62.
- [15] Malizos KN, Zalavras CG, Soucacos PN, et al. Free vascularized fibular grafts for reconstruction of skeletal defects. *J Am Acad Orthop Surg.* 2004;12(5):360-369.
- [16] Tan JH, Chen ZG, Zeng J, et al. *Zhonghua Xianwei Waik Zazhi.* 2003;26(4):287-288.
谭金海, 陈振光, 曾俊, 等. 带血供骨膜包裹骨形态发生蛋白联合修复四肢骨缺损的实验研究[J]. *中华显微外科杂志.* 2003, 26(4): 287-288.
- [17] Baumgart R, Hinterwimmer S, Krammer M, et al. Central cable system—fully automatic, continuous distraction osteogenesis for the lengthening treatment of large bone defects. *Biomed Tech (Berl).* 2004;49(7-8):202-207.
- [18] Kim MG, Shin DM, Lee SW. The healing of critical-sized bone defect of rat zygomatic arch with particulate bone graft and bone morphogenetic protein-2. *Plast Reconstr Surg.* 2010;63(3): 459-466.
- [19] Yu L, Liu XY, Li M, et al. *Zhongguo Jiaoxing Waik Zazhi.* 2010; 18(8): 673-677.
余雷, 刘兴炎, 厉孟, 等. 多孔载因子CPC促进骨缺损愈合的实验研究[J]. *中国矫形外科杂志.* 2010, 18(8):673-677.
- [20] Wang DX, Mou SL, Wang JR, et al. *Zhongguo Jiaoxing Waik Zazhi.* 2009;17(22):1735-1738.
王代亮, 牟淑玲, 王建然, 等. 负载骨形态发生蛋白与血管内皮生长因子的超聚消旋乳酸修复兔桡骨缺损的实验研究[J]. *中国矫形外科杂志.* 2009, 17(22):1735-1738.
- [21] Zhang JX, Xu ZW, Chang F. *Zhongguo Jiaoxing Waik Zazhi.* 2009; 17(19):1258-1261.
张建新, 徐展望, 常峰. 组织工程化人工骨修复骨缺损的实验研究[J]. *中国矫形外科杂志.* 2009, 17(19):1258-1261.

来自本文课题的更多信息--

基金资助: 全军十五医药卫生科研基金(06G018)项目, 课题名称: 四肢创伤大段骨缺损修复的系列研究。

作者贡献: 徐建强、张树明进行实验设计, 实验实施为徐建强、李长庚、杨飞、王长江、王克利, 实验评估为周密、孙锁柱, 资料收集为周密, 李长庚成文, 徐建强审核, 张树明对文章负责。徐建强与周密对文章或实验的贡献相同, 故并列第一作者。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理批准: 实验过程中对动物处置符合动物伦理学标准。

本文创新性: 以“聚乳酸-乙醇酸共聚物, 磷酸三钙, 骨形态发生蛋白2, 骨缺损, 肌肉移植”为关键词检索维普医药信息资源系统、中国生物医药知识库、生物医学外文资料服务系统 2000-01/2010-11 文章。实验创新性地自体带血供肌肉组织与复合骨形态发生蛋白的人工骨共同植入重建 6cm 以上较长段骨缺损, 既解决了缺损区所需骨量较大需要填充支撑的问题, 也解决了自体组织爬行替代人工骨时间较长、血管化过程缓慢的问题。

外国专家修饰的医学英语句型: 本刊英文部

中文	英文修前	英文修后
运动纤维的)错接率	misconnection rate	misconnect rate
理化性质接近神经再生所需的微环境	physical and chemical properties <u>are close to</u> the microenvironment required for neural regeneration	physical and chemical properties <u>closely emulate</u> the microenvironment required for neural regeneration
谱向长入的运动纤维	motor fibers <u>arranged in disorder</u>	<u>disorderly arranged</u> motor fibers
混合神经	mixed nerves	hybrid nerves
麻醉后处死大鼠	rats were <u>sacrificed</u> under anesthesia	rats were <u>ethanized</u> following anesthesia
尖细血管钳	tapered <u>blood vessel</u> forceps	tapered forceps