

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.38.009 [http://www.crter.org]
李善昌, 任媛媛. 川续断复合磷酸钙骨修复骨缺损[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(38):6759-6765.

川续断复合磷酸钙骨修复骨缺损★

李善昌, 任媛媛(佳木斯大学口腔医院口腔颌面外科, 黑龙江省佳木斯市 154002)

文章亮点:

1 实验将川续断与复合磷酸钙骨植入材料的结合植入骨缺损处, 探索川续断与复合磷酸钙骨植入材料混合的生物相容性及引导成果作用。
2 结果显示川续断/复合磷酸钙骨复合材料不仅能提供骨支架, 骨传导作用, 而且具有良好的骨诱导性和较强的刺激成骨能力, 可促进有机磷向无机磷转化, 加速钙盐沉积成骨, 对修复骨缺损有很好效果。

关键词:

生物材料; 组织工程骨材料; 复合磷酸钙; 川续断; 骨缺损; 成骨; 骨引导再生

主题词:

生物相容性材料; 磷酸钙类; 中草药; 下颌骨

摘要

背景: 复合磷酸钙骨植入材料的物理结构和无机成分与人体骨相似, 具有良好的生物可吸收性和生物相容性。研究证实续断细粉能明显提高骨缺损修复速度。

目的: 观察川续断复合磷酸钙骨复合植入材料修复骨缺损的效果。

方法: 在新西兰大白兔双侧下颌骨体部制备长约 1.0 cm、宽约 0.5 cm、深约 0.3 cm 的骨缺损, 右侧植入川续断复合磷酸钙材料作为实验组, 左侧植入磷酸钙骨材料作为对照组。植入后 4, 8, 12 周取材, 进行大体观察、CBCT 检测、扫描电镜、组织学观察。

结果与结论: ①大体观察: 实验组成骨速度、材料降解率及硬度高于对照组。②CBCT 检测: 实验组材料与周围组织结合紧密度强于对照组, 且材料降解速度快于对照组。③扫描电镜: 两组材料与周围正常骨组织间大多由纤维结缔组织充盈, 实验组比对照组更为紧密, 空隙更加微小, 随着时间的增加, 材料与周围正常骨组织的结合更为紧密。④组织学观察: 实验组成骨速度及成骨活性优于对照组。表明川续断复合磷酸钙骨植入材料具有明显加速成骨的作用。

Dipsacus asperoides combined with composite calcium phosphate bone implant for bone defect repair

Li Shan-chang, Ren Yuan-yuan (Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Stomatological Hospital of Jiamusi University, Jiamusi 154002, Heilongjiang Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Physical structure and inorganic composition of composite calcium phosphate bone implants are similar to human bone, and the implants have good bioabsorbable ability and biocompatibility. Studies have confirmed that *Dipsacus* powder can significantly improve the speed of bone defect repair.

OBJECTIVE: To study the effects of *Dipsacus asperoides*/composite calcium phosphate bone implant material in the repair of bone defects.

METHODS: Bone defects of 1.0 cm×0.5 cm×0.3 cm were made on the bilateral mandibular bodies. The right side was implanted with *Dipsacus asperoides*/ composite calcium phosphate bone implant as experimental group and the left side implanted with calcium phosphate bone material served as control group. Samples were collected at 4, 8, 12 weeks after implantation for gross observation, cone beam CT, scanning electron microscope observation and histological observation.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) Gross observation: the osteogenic speed, degradation rate and hardness in the experimental group were higher than those in the control group. (2) Cone beam CT detection: the implant in the experimental group was more tightly integrated with the surrounding tissues than that in the control group, and the degradation speed in the experimental group was higher than that in the control group. (3) Scanning electron microscope observation: there were many fibrous connective tissues between the implants and the surrounding tissues in the two groups, which was more obvious in the experimental group than the control group. With time gone, the implants were combined with the surrounding tissues more tightly. (4) Histological observation: the osteogenic speed and activity in the experimental group were superior to those in the control group. These findings indicate that *Dipsacus asperoides* combined with composite calcium phosphate bone implant can accelerate bone repair.

李善昌★, 男, 1969年生, 黑龙江省佳木斯市人, 2003年佳木斯大学毕业, 硕士, 主任医师, 主要从事口腔颌面肿瘤的研究。

通讯作者: 李善昌, 主任医师, 佳木斯大学口腔医院口腔颌面外科, 黑龙江省佳木斯市 154002
renyuanyuanjinan@126.com

中图分类号:R318
文献标识码:A
文章编号:2095-4344
(2013)38-06759-07

收稿日期: 2013-03-11
修回日期: 2013-04-13
(201302118/GW-W)

Li Shan-chang★, Master, Chief physician, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Stomatological Hospital of Jiamusi University, Jiamusi 154002, Heilongjiang Province, China

Corresponding author: Li Shan-chang, Chief physician, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Stomatological Hospital of Jiamusi University, Jiamusi 154002, Heilongjiang Province, China
renyuanyuanjinan@126.com

Received: 2013-03-11
Accepted: 2013-04-13

Subject headings: biocompatible materials; calcium phosphates; drugs, Chinese herbal; mandible

Li SC, Ren YY. Dipsacus asperoides combined with composite calcium phosphate bone implant for bone defect repair. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2013;17(38):6759-6765.

0 引言 Introduction

很多年来颌骨骨量不足在国内外口腔颌面外科临床上一直就是热点与难点, 是否能研制出最佳的骨缺损填充材料已经受到大众的注视。人工合成骨材料多为纯无机的材料, 具备良好的生物相容性, 有优良的弹性模量, 因此在临床上已得到普遍使用, 其中包括磷灰石、羟基磷灰石、磷酸三钙、 α -磷酸三钙、 β -磷酸三钙、可降解聚乳酸、磷酸钙复合人工骨和纳米人工骨, 其中磷酸三钙是目前临床研究和应用较多的人工骨材料。

磷酸三钙具有良好的生物相容性, 是一种生物可降解材料, 根据结构的不同可分为 α -磷酸三钙和 β -磷酸三钙。磷酸三钙与人骨的成分非常接近, 能与活性骨产生良好的化学性反应, 具有很好的生物相容性。关于磷酸三钙修复颌骨缺损的实验很多, 磷酸三钙作为骨缺损填充材料可促进新生骨的重建速率, 其主要化学结构钙磷是骨组织最主要的成分。磷酸三钙无毒、强度大、耐腐蚀、表面有极性, 具亲组织性, 其摩擦因数、密度、导热性和绝对强度等方面和人体骨十分相似^[1], 可作为骨缺损修复的替代材料^[2]。磷酸三钙本身对骨无诱导作用, 仅为新骨形成提供基质, 发挥骨生长引导作用^[3]。羟基磷灰石和磷酸三钙的组织相容性和降解性能较好, 但存在缺乏孔隙、颗粒较小、易分解、脆性大及不耐压的缺点^[4]。 β -磷酸三钙人工骨模仿人类松质骨结构, 具有了骨内多孔隙和孔隙连通好的特点, 临床应用在对创伤性骨缺损修复取得了较好的效果^[5]。大量文献证实 β -磷酸三钙具有良好的成骨活性, 但是因为实验方法不同, 其结果也存在差异^[6-7]。Zerbo 等^[8]做了一项前瞻性研究, 他们使用 β -磷酸三钙进行 9 例上颌窦提升, 5 例自体颞骨移植作为对照组, 术后 6 个月在提升的上颌窦中平均骨体积对照组为 41%, 实验组为 17%, 两者差异有显著性意义。ITI 种植体植入 1-3 年后均取得成功。他们进一步研究发现, 磷酸三钙颗粒周围的结缔组织细胞具有成骨性并有分化为成骨细胞的潜能^[9]。Suba 等^[10]的一项临床对照试验结果显示, 应用 β -磷酸三钙行上颌窦提升 6 个月后, 移植区新骨密度、骨移植材料界面微观结构及上颌窦提升高度与自体骨相比无统计学差异, β -磷酸三钙降解明显低于移植的自体骨。可以这么认为 β -磷酸三钙作为骨增量剂与自体骨混和后其成骨效果满意, 与自体骨相当, 但其单独作为植骨材料用于修复骨缺损时成骨速度较为缓慢。

多年以来复合磷酸钙骨植入材料是临床中最普遍

使用的骨缺损填充材料, 它所具有的优良生物相容性已得到广泛证实。迄今为止, 带血供的自体骨移植对颌面部骨缺损的修复治疗效果最为客观, 但由于自体骨的出处有很多制约条件, 并且有可能会造成供受区不可逆性的损害, 所以现在已基本不用此手术方法。一个新的思维方向即组织工程为颌骨骨量不足治疗开辟了新的道路, 并且只有血管化的组织工程骨可以提高成骨细胞的分化、生长、分裂、增殖等一系列功能性活动, 为其提供一个较好的营养来源, 最后还能与自身骨组织交融成一个完整的个体, 在体内发挥持久的生理生化功能。

最佳的骨缺损填充材料必须具备优良的骨传导性和骨诱导性, 能加快新生骨的生长形成, 在新骨结束结构、功能重新重建后即可基本完全代替旧有骨组织。如今, 随着高分子生物科技材料工程的迅猛崛起, 以生物可降解吸收为特性的材料已具有了成为最佳骨缺损填充材料的潜力。当前, 在国内外医学领域中缺少骨量一直是临床中的热点与技术难点, 现在临床上骨引导再生技术是使用频率最多的方法, 但偶尔也会与其他手术方法结合来解决缺少骨量的问题, 所以这种结合的手术方法就对临床上应用的骨填充材料提出了更严格的要求。

川续断为亚洲传统的中药材, 有皂苷等重要组成成分, 具有补肝肾、续折伤、强筋骨之功效, 主要用于肢节痠痹、腰酸背痛、跌扑创伤、损筋折骨、血崩下血、胎动漏红及遗精、带下等疾病^[11]。其中出产于宜昌五峰县和湖北鹤峰县的续断, 因为其制作后有根茎粗、质软、无首尾、深绿色(民间称乌梅色)、气味小、菊花状花蕊、味微甘而涩的优秀的特性, 而被民间称为“五鹤续断”。其“乌梅色花心”的秉性早已响彻国内外, 是湖北恩施州的最出名的中药材之一^[12-13]。它的主要成分皂苷具有增强骨密度、预防骨质疏松的效果, 其提取物更是加快新骨改建的主要活性成分^[14]。川续断适宜温带气候, 适宜在海拔 1 200-2 500 m 地区生长, 不惧寒冷, 对土壤要求不高, 但以土层厚重、多孔营养含腐殖质丰富的土壤为好^[15], 可通过其外观区别药材种类及最本质的成长状况。经过对续断部分生物学特性的观察, 不同种类的续断叶片存在不同程度的区别; 续断的分子生物及其离散组织方面的探究证明, 虽然有些续断在同属关系上相当接近, 并且生长区域重叠, 但其根茎部等各方面仍存在许多差异^[16]。现如今, 伴着生物科技的迅猛发展, 应用组织培养技术增加植物新个体数量已经成为大家关注的焦点, 在探索不同种类植物对愈合组织的引导作用时它已证明萘乙酸、2, 4-D(2, 4-二氯苯氧乙酸)、6-苄氨基腺嘌呤引导作用最为良好^[17]。引导丛生芽的最

优良培养基为 MS+6-苄基腺嘌呤 20 mg/L+萘乙酸 0.5 mg/L; 诱导生根最优良的培养基为 1/2 MS+萘乙酸 1.0 mg/L+聚丙烯酰胺 3330.4 mg/L^[18]。Tian 等^[19]用体积分数 95%乙醇对续断做分馏, 分馏出很多酚酸类的化合物。从川续断根茎中可提炼出 6 种咖啡酰奎尼酸的派生物可较大程度预防动脉粥样硬化等疾病^[20]。纪顺心等^[21]研究发现, 续断水煎剂及其提取物总皂苷能较明显提高大鼠骨缺损的治疗速度。

此实验目的是探索川续断复合磷酸钙骨植入材料混合的生物相容性及引导成骨作用, 证实该材料可提高成骨速度, 为临床应用提供坚实理论基础。

1 材料和方法 Materials and methods

设计: 自身对比观察实验。

时间及地点: 于 2012 年 6 至 10 月在佳木斯大学动物实验中心完成。

材料:

实验动物: 健康成年新西兰大白兔, 6 月龄, 雌雄不拘, 体质量 2.5-3.0 kg, 由佳木斯大学动物实验中心提供。

川续断/复合磷酸钙骨修复骨缺损实验的主要试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
磷酸钙骨植入材料	上海睿星基因技术有限公司
川续断	湛江市逢春制药有限公司
乌拉坦	佳木斯大学基础学院配置
多聚甲醛	济南市城海化工有限公司
庆大霉素	石家庄太行医药有限公司
醋酸异戊酯	中国信锋化工有限公司
CBCT	佳木斯大学附属第二医院
光学显微镜	佳木斯妇婴保健院
JSM-6360LV 扫描电镜	佳木斯大学材料学院

实验方法:

复合材料制作: 将干燥川续断的根研磨成川续断粗粉, 行星球磨机球磨 3 h, 玛瑙研钵研磨, 后筛网去粗, 最后使用的川续断细粉大小为 60 目左右, 将总质量占 10% 的超细粉末状川续断和总质量占 90% 的复合磷酸钙骨植入材料充分物理性混合, 通过生理盐水使其混合均匀, 制备成长 1.0 cm、宽 0.5 cm、厚 0.3 cm 的川续断复合磷酸钙骨混合材料和单一磷酸钙骨材料, 经过环氧乙烷消毒后备用。

动物模型的建立与分组: 将 6 只新西兰大白兔以乌拉坦 5 mL/kg 麻醉后, 常规备皮, 消毒, 铺巾。在颌下区正中做约 5.0 cm 的纵行切口, 分层切开皮肤、皮下组织至骨膜表面, 沿下颌骨下缘切开骨膜, 暴露下颌骨下缘及下颌骨颊面, 分别在双侧下颌骨体部用口腔科涡轮机制备长约 1.0 cm、宽约 0.5 cm、深约 0.3 cm 的骨缺损。手术过程使用生理盐水降温。缺损区制备后, 按预先设计

方案对缺损区予以不同处理, 右侧植入川续断复合磷酸钙骨混合材料作为实验组, 左侧植入磷酸钙骨材料作为对照组。止血后严密分层缝合创口, 再次用碘伏消毒创口, 分笼饲养。术后 3 d 肌注 2×10^4 U 庆大霉素, 2 次/d。分别在术后 4, 8, 12 周用空气栓塞法处死实验动物 2 只, 获取完整的下颌骨标本。

大体观察: 剥离离体下颌骨上粘连的神经血管等软组织, 观察骨缺损区域骨量的变化。

影像学观察: 对术后 4, 8, 12 周制备的离体下颌骨进行 CBCT 拍摄。

扫描电镜观察: 在 4% 戊二醛中至少浸泡 40 h, 用蒸馏水洗 3 遍, 12 min/次, 然后梯度密度乙醇对离体下颌骨进行脱水, 在醋酸异戊酯中浸泡 12 min, 在液氮冷冻干燥状态下抽真空, 最后用 JSM-6360LV 扫描电镜观察。

组织形态学观察: 分别取术后 4, 8, 12 周下颌骨缺损区骨块, 骨块大小应包括骨缺损区周围至少 0.3 cm 的骨组织, 40 g/L 多聚甲醛固定, 脱钙, 脱水, 包埋, 切片 4-6 μ m, 苏木精-伊红染色, 光学显微镜下进行观察。

主要观察指标: 两组不同时间点的大体观察、CBCT 检测、扫描电镜、组织学观察结果。

统计学分析: 对各时间点两组的 CT 骨密度灰度值进行比较, 应用 JMTJFX 简明统计分析软件 10.35 进行数据统计。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 24 只新西兰大白兔均进入结果分析。

2.2 两组大体观察结果 见图 1。



A: 植入川续断复合磷酸钙骨材料组缺损处材料被大量新生骨替代, 肉眼看不清界限

B: 植入磷酸钙骨材料组缺损处材料被一些新生骨替代, 肉眼可看清界限

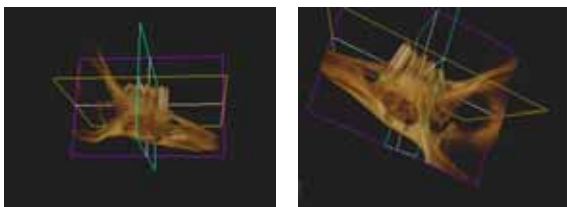
注: 表明川续断复合磷酸钙骨材料具有良好的骨诱导性和较强的刺激成骨能力。

图 1 兔下颌骨缺损处植入川续断复合磷酸钙骨材料或磷酸钙骨材料 12 周后的大体图片

Figure 1 Gross observation of rabbit mandibular defects at 12 wk after treatment with *Dipsacus asperoides* composite calcium phosphate bone implant or calcium phosphate bone implant alone

术后第2天多数兔已开始进食, 查看术区无红肿无渗出, 术后第4天开始术区缝合线逐渐脱落。术后4周, 下颌骨缺损处混合材料表层盖有少许纤维结缔组织, 实验组多于对照组。术后8周, 实验组材料骨缺损区仅有中心部分有材料剩余, 材料周围部分被新生骨代替, 材料与周围骨组织的界限不清晰, 无活动度; 对照组骨缺损区材料剩余较多, 与四周正常骨组织的界限较明显。术后12周, 实验组骨缺损处材料被大量新生骨所替代, 肉眼看不清界限, 材料降解率明显高于对照组, 硬度也明显高于对照组; 随机抽取两组术后12周大体观察图片, 见图1。

2.3 两组影像学观察结果 术后4周, 实验组骨缺损区未见透射影像, 材料与四周正常骨组织紧密结合, 密度稍低于正常骨组织; 对照组骨缺损区材料与四周骨组织的界限清晰, 材料变化不明显。术后8周, 实验组骨缺损区材料与周围正常骨组织界限不明显; 对照组骨缺损区表面不平整, 边缘仍旧较清晰, 大部分材料仍未降解。术后12周, 实验组骨缺损区材料由高密度影替代, 材料与周围正常骨组织结合紧密, 已属于骨性结合; 对照组骨缺损处材料表面凹凸不平, 边缘界限仍隐约可见, 材料被不规则水滴状低密度影所替代; 随机抽取两组术后8周CBCT图像, 见图2。



A: 植入川续断复合磷酸钙骨材料组骨缺损区材料与周围正常骨组织界限不明显

B: 植入磷酸钙骨材料组缺损区表面不平整, 边缘仍旧较清晰, 大部分材料仍未降解

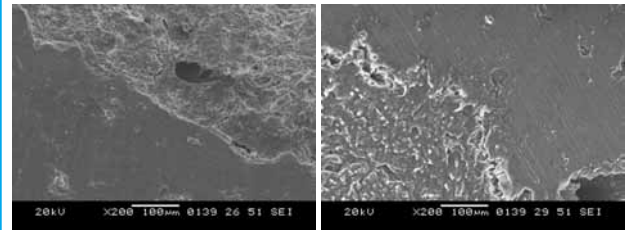
注: 表明川续断复合磷酸钙骨材料具有良好的骨诱导性。

图2 兔下颌骨缺损处植入川续断复合磷酸钙骨材料或磷酸钙骨材料 8 周后的 CBCT 图像

Figure 2 Cone beam CT observation of rabbit mandibular defects at 8 wk after treatment with *Dipsacus asperoides*/composite calcium phosphate bone implant or calcium phosphate bone implant alone

2.4 两组扫描电镜观察结果 术后4周, 实验组骨缺损区可看到有少量附着骨壁上的组织, 说明实验组的骨修复材料能与骨组织结成较牢固的接触, 但钙含量较低; 对照组骨缺损区干净, 未见到残存组织。术后8周, 实验组可见骨质较均匀, 但可见到骨质缺损; 对照组可见

纤维组织成分, 钙盐沉积现象不明显。术后12周, 实验组骨缺损处骨质较均匀, 少量骨质缺损, 钙含量较高; 对照组可见纵横交错的纤维组织成分, 部分区域可见钙化部分; 随机抽取两组术后8周的扫描电镜图, 见图3。



A: 植入川续断复合磷酸钙骨材料组骨质较均匀, 但可见到骨质缺损

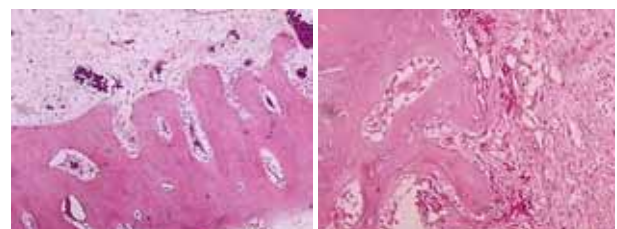
B: 植入磷酸钙骨材料组可见纤维组织成分, 钙盐沉积现象不明显

注: 表明川续断复合磷酸钙骨材料具有更强的刺激成骨作用。

图3 兔下颌骨缺损处植入川续断复合磷酸钙骨材料或磷酸钙骨材料 8 周后的扫描电镜观察($\times 200$)

Figure 3 Scanning electron microscope observation of rabbit mandibular defects at 8 wk after treatment with *Dipsacus asperoides*/composite calcium phosphate bone implant or calcium phosphate bone implant alone ($\times 200$)

2.5 两组组织学观察结果 见图4。



A: 植入川续断复合磷酸钙骨材料组骨小梁排列较为平整, 密度明显增强, 新生骨量明显增加并且出现了皮质骨样结构($\times 40$)

B: 植入磷酸钙骨材料组骨小梁也开始增多, 骨小梁周围有部分不成熟的成骨细胞包围, 少量新生骨出现在骨缺损区, 皮质骨大小不一, 形态不太规则($\times 100$)

注: 表明川续断复合磷酸钙骨材料具有更强刺激成骨的能力及成骨速度。

图4 兔下颌骨缺损处植入川续断复合磷酸钙骨材料或磷酸钙骨材料 12 周后的苏木精-伊红染色

Figure 4 Hematoxylin-eosin staining of rabbit mandibular defects at 12 wk after treatment with *Dipsacus asperoides*/composite calcium phosphate bone implant or calcium phosphate bone implant alone

术后4周, 实验组骨缺损处材料中由很多纤维性质

的骨痂构成, 大量成骨细胞分化增殖; 对照组有少许成骨细胞分化增殖, 新生骨量生长明显少于实验组。术后 8 周, 实验组骨小梁数量及新生骨量明显增多, 骨小梁表面围绕一层成骨细胞; 对照组有少量骨痂形成, 可明显看出部分材料的降解。术后 12 周, 实验组骨小梁排列较为平整, 密度明显增强, 新生骨量明显增加并且出现了皮质骨样结构; 对照组骨痂也开始明显增多, 骨小梁周围有部分不成熟的成骨细胞包围, 少量新生骨出现在骨缺损区, 皮质骨大小不一, 形态更是不太规则; 随机抽取两组术后 12 周的苏木精-伊红染色图片, 见图 4。

2.6 两组 CT 骨密度灰度值分析结果 两组骨密度灰度值均随着时间的延长逐渐增大; 术后 4, 8, 12 周两组的 CT 骨密度平均值见表 1, 经方差分析表明实验组术后 4, 8, 12 周的骨密度灰度值均高于对照组 ($P < 0.05$)。

表 1 兔下颌骨缺损处植入川续断复合磷酸钙骨材料或磷酸钙骨材料后不同时间点的 CT 值

Table 1 The CT-based bone mineral density of experimental group and control group at different time ($\bar{x} \pm s$, gray value)

术后时间点	川续断复合磷酸钙骨材料组	磷酸钙骨材料组
4 周	347.56±12.11 ^a	339.27±19.86
8 周	575.16±16.03 ^a	564.56±18.32
12 周	782.64±17.51 ^a	768.63±15.36

与磷酸钙骨材料组比较, ^a $P < 0.05$ 。

注: 结果表明川续断复合磷酸钙骨材料具有良好的骨诱导性和较强的刺激成骨能力。

3 讨论 Discussion

各种各样的病因导致的颌骨骨量不足在国内外口腔颌面外科临床中非常多见, 而颌骨骨量不足造成的部分功能缺失和外观上的缺陷经常造成患者生活质量的急剧下降, 并给患者造成较大的心理创伤^[22]。目前牵张成骨、引导骨组织再生及骨组织工程技术是迄今为止比较成熟的颌骨修复重建技术。牵张成骨是指在骨缝处或在截开的骨段两端用牵张装置按照一定的速度和频率牵开, 在每天产生的微量骨间隙中逐渐形成新骨, 从而达到使骨延长或增宽的目的。近年来, 牵张成骨在颅颌面外科中得到了公众的普遍认可, 并且实现了以往手术方法无法获得的最佳治疗效果, 但这种方法也存在一定的不足之处, 即临床治疗过程较长, 患者生理和心理上遭受了极大痛苦, 如何缩短牵引成骨过程及时间已经成为临床研究中需要克服的一个难题。

骨引导再生技术是种植牙科学中被承认的适合恢复小面积颌骨缺损、重建新生骨组织、增加骨密度的一种方法。骨组织工程的目的是模拟骨折过程中骨重建的自然过程, 在特定骨缺损区通过对骨髓干细胞、支架和生物活性物质等的调控, 加速促进骨组织愈合。如今, 临床上用于增加颌骨骨量不足的骨组织填充材料主要有自体骨、同种异体骨、异种骨、人工合成骨等。因为自体骨有骨诱导性、骨生成性和骨传导性 3 大特性, 迄今为止被公众普遍认为是最佳的骨填充材料, 可有效增加骨缺损区骨量, 所以自体骨移植是公认治疗骨缺损的“金标准”, 但由于其来源有限, 提供的骨量也很有限, 难以满足大范围骨缺损的需要, 而且患者必须承受来自第二术区取骨后会出现的疼痛血肿及运动神经感觉神经功能减弱等痛苦, 还有可能会造成供受区不可逆性的损害, 且在植入后 6 个月即可出现高达 40% 的骨吸收^[23]。这些缺点及高额的手术费用导致其临床应用非常受限, 患者接受起来比较困难, 所以近年来应用有所减少^[24]。同种异体骨, 比如说在尸体上取骨, 移植到患者骨缺损区, 由于患者及家属的心理排斥和匹配的获取来源有限等原因而受限于临床应用。

为改变这种现状, 一直以来工作人员做了很多实验研究, 在聆郎满目的骨修复材料中以羟基磷灰石为根本的混合材料, 因其优秀的生物活性及较好的生物相容性而成为热点^[25]。临床中骨缺损病例较多, 寻找一种理想的修复材料一直都是医学学者研究的重点。而复合磷酸钙骨植入材料的物理结构和无机成分与人体骨相似, 同时具备了羟基磷灰石组分的骨传导性和稳定的支架作用, 以及 β -磷酸三钙组分的溶解性, 植入后材料被逐渐吸收, 随后被长入的新生骨替代; 其良好的生物可吸收性和生物相容性, 为骨损伤周围组织提供了理想愈合环境, 是临床骨移植手术的安全选择。磷酸钙具有药物载体和骨缺损修复双重作用。Bragnces 等^[26]应用纳米磷酸钙材料填充了 11 例跟骨骨量不足病例, 随访 1 年, 炎症反应轻微, 部分填充材料被新骨代替。Franchi 等^[27]应用羟基磷灰石水泥进行 150 例颌面重建, 取得了良好治疗效果。

最近几年来, 伴随着全球范围内“回归自然”的风起云涌, 以及专家对化学药品后续毒副作用的探索, 国内外市场正在逐渐提高对纯天然中药材的重视程度, 川续断作为一种极其重要的中药, 其巨大的市场开发潜力是不容小觑的。皂苷是续断的主要活性成分, 据现有资料统计, 在川续断科植物中一共提炼出多达 29 种皂苷类的化合物。皂苷的主要用途在于预防骨质疏松、增强骨密度。程志安等^[28]研究证实续断可明显增强已摘除卵巢大鼠全部骨骼的骨密度、骨矿物质含量和骨中钙盐含量, 亦证明其可预防骨质疏松。现有资料还证实续断能提高已摘除卵巢小鼠骨头重塑速度来预防骨中矿物质

的流失,同时增强骨密度,预防体内带体系结构的年龄性退化^[29]。续断对股指疏松症的预防及治疗有确切疗效,对成骨细胞的增殖也有促进作用^[30]。现代药理学研究表明,川续断对未孕或妊娠小鼠子宫都具有很好抑制收缩的作用,减少妊娠小鼠子宫自发收缩频率并抑制妊娠大鼠子宫的收缩幅度,有降低张力的作用^[31]。续断有促进实验性骨折愈合的作用并可增加羟脯氨酸含量与钙含量,增加成骨细胞的活性和数量,促进基质大量钙化。川续断能够加速牙齿在牙周病重建后新生牙周组织的改建^[32]。王磊等^[32]研究中药川续断在大鼠牙周病重建后的新生牙周组织改建中的作用机制及其对破骨细胞的影响。实验选取 48 只 SPF 级 SD 雌性大鼠,随机分为川续断组和对照组,每组 24 只,制作大鼠重度牙周病模型并利用釉基质蛋白进行牙周重建之后,建立大鼠正畸牙移动实验模型,川续断组根据大鼠体质量灌服川续断水煎剂,对照组灌服生理盐水,两组动物于正畸加力 28 d 后处死。分离大鼠上颌骨,测量上颌第一磨牙移动的距离,制作牙周组织切片,染色后光镜下观察,并进行统计学分析。结果显示川续断组牙移动距离明显大于对照组($P < 0.05$)。光镜下可见川续断组牙周组织中破骨细胞数目明显增多,与对照组相比差异有显著性意义($P < 0.05$)。说明在正畸牙移动过程中川续断水煎液能促进再生牙周的破骨细胞增殖和分化,促进再生牙槽骨吸收及其修复重建,有利于正畸牙移动。续断单独用于骨疾病治疗方面的研究已有报道^[33]。

在植物分类与系统演化研究中,核型分析、显微结构及花粉形态是分析类群之间关系、探索种群发育与演化的重要依据。天然化学成分及药理作用是中药材质量的主要影响因素之一,但如果只局限于成分分析及药理作用,以及少量对其不同环境成分差异的研究,缺乏从生理变化及种质资源等更深入更系统的研究,尤其缺少中药材质量的内在影响因素,即分子层面的研究探讨是很片面且不科学的。

实验证实川续断复合磷酸钙骨材料有良好的骨诱导性,且成本低。实验组各时间点材料与周围组织结合较对照组紧密,同时材料降解速度要快于对照组,实验组在术后 8 周时材料与周围组织边界模糊不清,12 周时材料与周围组织融合达到了骨性连接,与此同时对照组滞后于实验组。两组材料与周围组织间主要由纤维缔结组织构成,实验组较对照组致密,空隙更小,更加紧密。在术后 4, 8, 12 周中实验组有大量密集有成骨细胞,同时钙盐沉积明显好于对照组,实验组具有良好骨活性,对照组成骨速度明显落后于实验组,说明实验组具有较强的刺激成骨作用,促进骨缺损愈合,术后 12 周时实验组骨小梁排列整齐,密度增大,新生骨呈现皮质骨样结构,此时对照组骨小梁排列不整齐,皮质骨厚薄不均,形态不规则。随着时间推移材料都有不同程

度降解,实验组 CT 骨密度灰度值均大于对照组,各术后 4, 8, 12 周 CT 骨密度灰度值均随时间延长而增加。通过实验得出复合材料不仅能提供骨支架,骨传导作用,而且具有良好的骨诱导性和较强的刺激成骨能力,促进有机磷向无机磷转化,加速钙盐沉积成骨,对修复骨缺损有很好效果,相信川续断复合磷酸钙骨材料具有广阔的发展前景,有待于进一步的开拓,为今后的实验研究提供依据。

致谢: 首先要感谢导师李善昌,本课题是在尊敬的李善昌导师的悉心指导和严格要求下完成的。其次,感谢佳木斯大学附属第二医院口腔颌面外科姜炳华老师、闫磊老师、宁尚波老师在我研究生学习期间给予的指导与帮助。在此,谨向姜老师、闫老师、宁老师致以最诚挚的敬意和最衷心的感谢。感谢佳木斯大学附属第二医院牙体一科董波董主任、王佳琦老师在转科期间的指导和帮助。感谢全体口腔医院老师在临床上的指导。最后,感谢家人的支持和鼓励。

作者贡献: 任媛媛进行实验设计,实验实施为任媛媛,实验评估为李善昌,资料收集为任媛媛,任媛媛成文,李善昌审核,李善昌、任媛媛对文章负责。

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。

伦理要求: 实验过程中对动物的处置符合 2009 年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

学术术语: 牵张成骨-是一种内源性骨组织工程技术,是通过将骨骼切开,在切骨线两侧安放特制的牵张器,经过一定的延迟期后(5-7 d),缓慢牵张切骨间隙(1-1.5 mm/d),使切骨间隙不断增宽,并激发机体组织再生的潜力,在牵张间隙内不断形成新生骨组织,同时使骨骼周围的肌肉、神经、血管、皮肤等同期延长,从而达到延长骨骼的目的。

作者声明: 文章为原创作品,数据准确,内容不涉及泄密,无一稿两投,无抄袭,无内容剽窃,无作者署名争议,无与他人课题以及专利技术的争执,内容真实,文责自负。

4 参考文献 References

- [1] Sous M, Bareille R, Rouais F, et al. Cellular biocompatibility and resistance compression of macroporous beta-tricalcium phosphate ceramics. *Biomaterials*. 1998;19(23): 2147- 2153.
- [2] Ganeles J, Listgarten MA, Evian CI. Ultrastructure of durapatite-periodontal tissue interface in human intrabony defects. *J Periodontol*. 1986;57: 133-134.
- [3] Turnbull RS, Amler MH. Histological comparison of hydroxyapatite and betatricalcium phosphate implants in the rat parietal bone. *J Dent Res*. 1985;64:218-219.
- [4] Szpalski M, Gunzburg R. Application of calcium phosphate-based cancellous bone void fillers on trauma surgery. *Orthopedics*. 2002;25(5 Suppl): 597-600.

- [5] Wiltfang J, Merten HA, Schlegel KA, et al. Degradation characteristics of alpha and beta tri-calcium-phosphate (TCP) in minipigs. *J Biomed Mater Res*. 2002;63(2):115-121.
- [6] Kishimoto M, Kanemaru S, Yamashita M, et al. Cranial bone regeneration using a composite scaffold of Beta-tricalcium phosphate, collagen, and autologous bone fragments. *Laryngoscope*. 2006;116(2): 212-216.
- [7] Ogose A, Hotta T, Kawashima H, et al. Comparison of hydroxy-apatite and beta tricalcium phosphate as bone substitutes after excision of bone tumors. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2005;72(1):94-101.
- [8] Zerbo IR, Zijderveld SA, de Boer A, et al. Histomorphometry of human sinus floor augmentation using a porous beta-tricalcium phosphate: a prospective study. *Clin Oral Implants Res*. 2004;15(6):724-732.
- [9] Zerbo I, Bronckers A, de Lange G, et al. Localization of osteogenic and osteoclastic cells in porous beta-tricalcium phosphate particles used for human maxillary sinus floor elevation. *Biomaterials*. 2005;26(12): 1445-1451.
- [10] Suba Z, Takács D, Matusovits D, et al. Maxillary sinus floor grafting with beta-tricalcium phosphate in humans: density and microarchitecture of the newly formed bone. *Clin Oral Implants Res*. 2006;17(1): 102-108.
- [11] 王家葵, 王一涛. 续断功效与临床应用历史沿革考[J]. *中医杂志*, 1992, 33(6):49-50.
- [12] 张万福. 五鹤续断的地道历史考证[J]. *中国中药杂志*, 2003, 28(11): 1100-1101.
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [14] 谭洪根, 林生, 张启伟, 等. 高效液相色谱法测定续断药材中川续断皂苷VI的含量[J]. *中国中药杂志*, 2006, 31(9): 726-727.
- [15] 丁莉, 武芸. 五鹤续断部分生物学特征及栽培管理研究[J]. *湖北民族学院学报: 自然科学版*, 2005, 23(2):144-146.
- [16] 李燕立, 艾铁民, 傅桂芳. 中药续断显微鉴定研究[J]. *中国中药杂志*, 1993, 18(5):265-268
- [17] 武芸, 丁莉, 韩鸿, 等. 五鹤续断愈伤组织的诱导和增殖[J]. *安徽农业科学*, 2009, 37(13):5877-5878.
- [18] 武芸, 武王莲, 张泽, 等. 五鹤续断快繁体系的建立和优化[J]. *时珍国医国药*, 2010, 21(4):988-989.
- [19] Tian XY, Wang YW, Liu XK, et al. On the chemical constituents of *Dipsacus asper*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2007;55(12): 1677-1681.
- [20] Hung TM, Na M, Thuong PT, et al. Antioxidant activity of caffeoyl quinic acid derivatives from the roots of *Dipsacus asper* Wall. *J Ethnopharmacol*. 2006;108(2):188-192.
- [21] 纪顺心, 吴雪琴, 李崇芳. 中药续断对大鼠实验性骨损伤愈合作用的观察[J]. *中草药*, 1997, 28(2):98-99.
- [22] 张海亮, 随丽娜. 多孔羟基磷灰石生物活性玻璃修复兔颌骨缺损[J]. *医药论坛杂志*, 2007, 28(8):26-27.
- [23] Schlegel KA, Fichtner GF, Schultze-Mosgau S, et al. Histologic findings in sinus augment with autogenous bone chips versus a bovine bone substitute. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2003; 18:53-58.
- [24] Lee JH, Kim MJ, Choi WS, et al. Concomitant reconstruction of mandibular basal and alveolar bone with a free fibular flap. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2004;33:150-156.
- [25] Monroe EA. New calcium phosphate ceramic material for Bone and tooth implants. *J Dent Res*. 1971;12(6):50-51.
- [26] Bragncs CR, Burke D, Lowenstein JD, et al. Differences in stiffness of the interface between a cementless porous implant and cancellous bone in vivo in dogs due to varying amounts of implant motion. *Arthroplasty*. 1996;11(10): 945-951.
- [27] Franchi M, Bacchelli B, Martini D, et al. Early detachment of titanium particles from various different surfaces of endosseous dental implants. *Biomaterials*. 2004; 25(6): 2239-2246.
- [28] 程志安, 吴燕峰, 黄智清, 等. 续断对成骨细胞增殖、分化、凋亡和细胞周期的影响[J]. *中医正骨*, 2004, 16(12):705-707.
- [29] Liu ZG, Zhang R, Li C, et al. The osteoprotective effect of *Radix Dipsaci* extract in ovariectomized rats. *J Ethnopharmacol*. 2009;123:74-81.
- [30] 郭昭庆, 党耕町, 王志国. 氟化钠及续断组分对成骨细胞增殖的影响[J]. *中华骨科杂志*, 1998, 18(2):84.
- [31] 龚小健, 吴知行, 陈真, 等. 川续断对离体子宫的作用[J]. *中国药科大学学报*, 1995, 26(2):115.
- [32] 王磊, 张梅, 王旭霞, 等. 中药川续断促进再生牙周对正畸力反应的研究[J]. *山东大学学报*, 2011, 49(11):15-20.
- [33] 郑志永. 续断苷对人成骨细胞增殖和分化作用研究[J]. *山东中医药大学学报*, 2006, 30(5):388-389.