

可吸收生物玻璃注射体在骨质疏松大鼠椎体内的支撑及诱导成骨机制

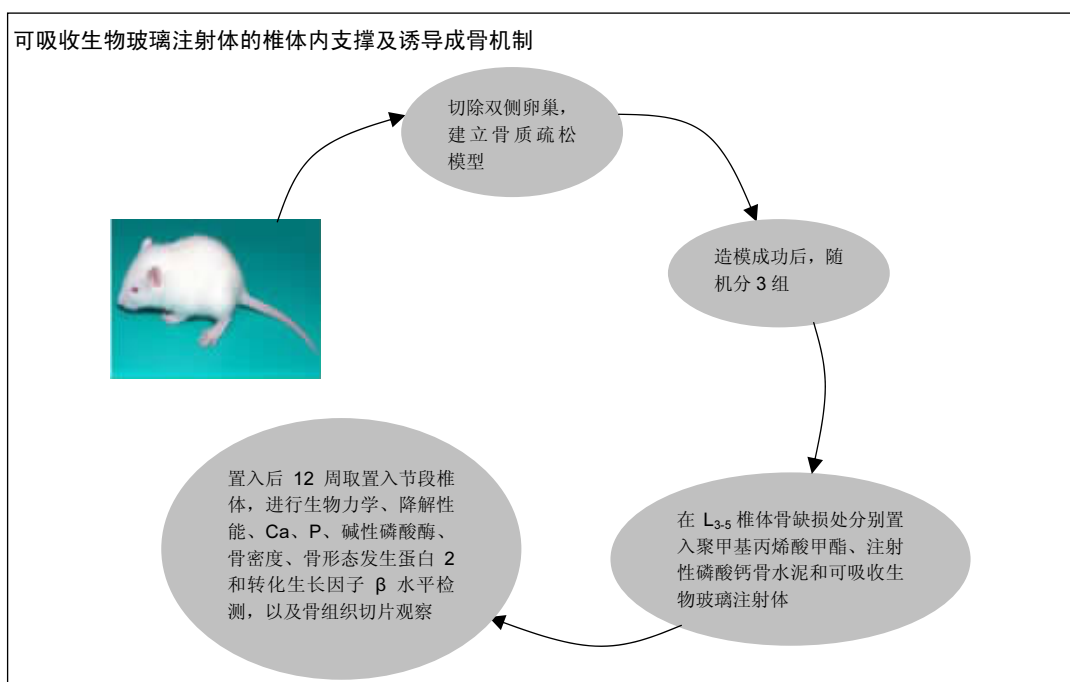
边竟¹, 龚泰芳¹, 陈文¹, 郑红梅²(十堰市太和医院(湖北医药学院附属医院), ¹骨科一病区, ²普通外科, 湖北省十堰市 442000)

引用本文: 边竟, 龚泰芳, 陈文, 郑红梅. 可吸收生物玻璃注射体在骨质疏松大鼠椎体内的支撑及诱导成骨机制[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(16):2310-2316.

DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2016.16.004

ORCID: 0000-0003-3640-1589(郑红梅)

文章快速阅读:



边竟, 女, 1977年生, 湖北省十堰市人, 汉族, 硕士, 主要从事新型生物材料在骨科疾病中的应用及基础研究。

通讯作者: 郑红梅, 硕士, 主任医师/副教授, 硕士生导师, 湖北省十堰市太和医院普外科, 湖北省十堰市 442000

中图分类号: R318

文献标识码: A

文章编号: 2095-4344

(2016)16-02310-07

稿件接受: 2016-03-06

<http://www.crter.org>

文题释义:

可吸收生物玻璃注射体: 为生物玻璃与磷酸钙骨水泥的复合物, 主要成分为 SiO_2 、 CaO 、 P_2O_5 和 Na_2O , 与人体骨类似, 能够在材料界面与人体骨组织之间形成牢固化学键, 增加连接强度, 提高移植体与界面的稳定性, 传导性优于磷酸钙骨水泥。

骨质疏松症模型: 目前临床中主要有 7 种动物模型: ①绝经后骨质疏松症模型, 通过手术或药物“去势法”, 模拟人类绝经后雌激素缺乏而导致的骨质疏松, 最符合人体骨质疏松的发病特点, 为目前研究骨质疏松症模型应用最多的模型方法; ②老年性骨质疏松症模型, 是目前唯一一种能证明增龄性骨质疏松的理想模型; ③老年男性骨质疏松症模型可通过将雄性大鼠去势 18 周; ④内分泌代谢性骨质疏松症模型, 可将雌性 Wistar 大鼠制成糖尿病模型后进行去势手术; ⑤营养缺乏性骨质疏松症模型, 通过高蛋白低钙饮食可模拟膳食不平衡导致的骨质疏松; ⑥药物性骨质疏松症模型, 通过糖皮质激素、维甲酸导致骨质疏松; ⑦失用性骨质疏松症模型, 通过全身或局部制动方法来模拟临床中继发骨折或其他手术后不同程度的制动, 而导致的骨质疏松。

摘要

背景: 生物玻璃与磷酸钙骨水泥复合形成的可吸收生物玻璃注射体, 能在材料界面与人体骨组织之间形成牢固化学键, 提高移植体与界面的稳定性。

目的: 观察可吸收生物玻璃注射体在骨质疏松大鼠模型椎体内的支撑及诱导成骨机制。

方法: 切除 30 只雌性 SD 大鼠双侧卵巢, 制备骨质疏松模型。造模成功后, 随机分成 3 组, 在 L_{3-5} 椎体骨缺损处分别置入聚甲基丙烯酸甲酯、注射性磷酸钙骨水泥和可吸收生物玻璃注射体。置入后 12 周取置入节段椎体, 进行生物力学、降解性能、Ca、P、碱性磷酸酶、骨密度、骨形态发生蛋白 2 和转化生长因子 β 水平检测, 以及骨组织切片观察。

Bian Jing, Master, First Orthopedics Ward, Taihe Hospital of Shiyan (Affiliated Hospital of Hubei Medical University), Shiyan 44200, Hubei Province, China

Corresponding author: Zheng Hong-mei, Master, Chief physician, Associate professor, Master's supervisor, Department of General Surgery, Taihe Hospital of Shiyan (Affiliated Hospital of Hubei Medical University), Shiyan 44200, Hubei Province, China

结果与结论: 可吸收生物玻璃注射体组的降解性能、抗压强度、表面羟基磷灰石沉积量、骨密度显著高于其余两组($P < 0.05$), 骨小梁相对体积、厚度和数量显著大于其他两组($P < 0.05$), 血清 Ca、碱性磷酸酶、骨形态发生蛋白 2 和转化生长因子 β 水平显著高于其他两组($P < 0.05$), 血清 P 水平低于其他两组($P < 0.05$)。结果表明, 可吸收生物玻璃注射体可增强骨质疏松椎体内支撑力, 诱导成骨, 可能与提高骨形态发生蛋白和转化生长因子 β 的表达有关。

关键词:

生物材料; 骨生物材料; 新型可吸收生物玻璃注射体; 骨质疏松; 聚甲基丙烯酸甲酯; 注射性磷酸钙骨水泥; 力学性能; 骨形态发生蛋白 2; 转化生长因子 β

主题词:

骨质疏松; 甲基丙烯酸甲酯类; 磷酸钙类; 组织工程

基金资助:

湖北省卫生厅青年人才项目(WJ2015Q040); 骨癌痛大鼠痛觉调控核团特异性基因与蛋白表达谱研究

Absorbable bio-glass injection in osteoporosis mice: a support for the osteoporotic vertebral body and mechanism of osteogenic induction

Bian Jing¹, Gong Tai-fang¹, Chen Wen¹, Zheng Hong-mei² (¹First Orthopedics Ward, ²Department of General Surgery, Taihe Hospital of Shiyan (Affiliated Hospital of Hubei Medical University), Shiyan 44200, Hubei Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Absorbable bio-glass injection composed by bio-glass and calcium phosphate bone cement can be tightly combined with bone tissue by a strong chemical bond to improve the stability of the bone-implant interface.

OBJECTIVE: To investigate the effect of absorbable bio-glass injection to support the vertebral body of osteoporosis mice and its mechanism of osteogenic induction.

METHODS: Osteoporosis models were prepared in 30 female Sprague-Dawley rats undergoing bilateral ovariectomy. After modeling, model rats were randomly divided into three groups, and given polymethylmethacrylate, injectable calcium phosphate bone cement and absorbable bio-glass injection into L₃₋₅ vertebral bone defects, respectively. L₃₋₅ segments were removed at 12 weeks after implantation to detect the biomechanical and degradation properties, levels of calcium and phosphate, alkaline phosphatase activity, bone mineral density, levels of bone morphogenetic protein 2 and transforming growth factor β , as well as histological observation.

RESULTS AND CONCLUSION: In the absorbable bio-glass injection group, the degradation properties, compressive strength, surface hydroxyapatite deposition amount and bone mineral density were significantly higher than those in the other two groups($P < 0.05$); trabecular bone relative volume, thickness and number were significant higher than those in the other two groups ($P < 0.05$); serum levels of calcium, alkaline phosphatase, bone morphogenetic protein 2 and transforming growth factor β were significantly higher than those in the other two groups($P < 0.05$); but the level of serum phosphate was lower than that in the other two groups($P < 0.05$). These results show that the absorbable bio-glass injection can enhance the support for the osteoporotic vertebral body and induce osteogenesis, probably by increasing bone morphogenetic protein 2 and transforming growth factor β levels.

Subject headings: Osteoporosis; Methylmethacrylates; Calcium Phosphates; Tissue Engineering

Funding: the Young Talent Project of Hubei Provincial Health Department, No. WJ2015Q040

Cite this article: Bian J, Gong TF, Chen W, Zheng HM. Absorbable bio-glass injection in osteoporosis mice: a support for the osteoporotic vertebral body and mechanism of osteogenic induction. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2016;20(16):2310-2316.

0 引言 Introduction

骨质疏松的主要特征是骨量减少和骨微结构破坏, 导致骨脆性增加^[1], 极易并发骨折、松质骨压缩及骨缺损^[2]。中国50岁以上人群中骨质疏松患者有近7 000万, 每年新发脊柱压缩骨折约181万^[3], 严重降低了患者生

活质量, 增加了医疗费用负担, 已成为威胁老年患者的重要卫生健康问题。临床中多采用双能X射线吸收测量检测骨密度来诊断骨质疏松^[4], 中国1999年诊断骨质疏松的标准为峰值骨量减少超过2个标准差^[5]。骨质疏松的药物治法包括抑制骨吸收药物, 如雌激素替代、选择性

雌二醇受体调节剂(雷洛昔芬等)、双膦酸盐类(阿仑膦酸盐等)、降钙素、异黄酮衍生物(依普黄酮等); 骨形成促进剂, 如氟化剂、甲状旁腺激素、他汀类药物; 骨矿化药物, 如钙剂、维生素D及其衍生物等^[6-8]。单纯的药物治疗仅适合轻度骨质疏松患者, 对伴有严重骨折的患者应尽早手术治疗。骨质疏松继发椎体压缩性骨折的外科常用术式为椎体成形^[9], 结合生物材料可增加椎体的稳定性^[10]。目前各种生物材料的研究已成为骨科的热点和难点, 随着生物工程的不断应用, 骨科可替代材料的性能不断改进, 机械性能和生物相容性越来越佳。

生物材料聚甲基丙烯酸甲酯在美国使用率较高, 优点是可操作性较好、生物性能良好、生物相容性良好^[11], 不足之处是较高的聚合反应放热, 可导致手术区域软组织和神经末梢的热坏死; 单体具有毒性, 可导致化学坏死及血管扩张; 不可吸收、无生物活性(骨传导、诱导作用等), 无法与表面骨组织间形成紧密离子键; 较高的强度和硬度还可能加重邻近椎体的脱出或骨折等^[12]。磷酸钙骨水泥产热较少, 固化时间短, 可塑性强, 有较好的组织相容性、骨传导和可降解性, 可作为骨诱导因子或药物载体, 具有广阔的临床应用价值^[13]。然而, 磷酸钙骨水泥在体内降解缓慢^[14]。生物玻璃具有良好的生物活性和生物相容性, 可与多种材料复合, 如高分子合成材料、无机盐或有机物等, 形成性能更佳的复合材料, 在组织工程、骨科或口腔骨缺损填充和修复治疗中得到广泛应用, 并取得较好效果^[15]。生物玻璃的一个重点特征是可与其接触的骨及软骨组织间形成紧密的离子键, 加强材料与骨组织间的融合性, 最终可在表面形成羟基磷灰石层, 诱导更快速的骨修复与再生; 析出的Ca、P及Si离子可有效促进骨细胞的黏附、增殖和分化^[16]。生物玻璃的不足之处是脆性大、机械强度低^[17], 而将其与磷酸钙骨水泥复合形成新型可吸收生物玻璃注射体, 可兼具二者优点, 预计有更佳的应用空间^[18]。实验试图探讨新型可吸收生物玻璃注射体在骨质疏松椎体内支撑及诱导成骨的机制。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 实验于2015年9月至2016年1月在湖北医药学院动物实验中心完成。

1.3 材料

实验动物: 2月龄健康雌性SD大鼠30只, 由湖北医药学院动物实验中心饲养提供, 许可证号为SYXK

(鄂)2011-0031, 体质量180-220 g, 正常饮食和饮水, 光照和黑暗各12 h, 温度为(23±2) °C, 适应性喂养1周后进行实验。

模拟体液: 与血浆成分接近, 由NaCl、NaHCO₃、KCl、K₂PO₄·3H₂O、MgCl₂·6H₂O、1.0 mol/L HCl、CaCl₂、Na₂SO₄和(HOCH₂)₃CNH₂按照一定比例配制而成。

可吸收生物玻璃注射体置入实验的主要材料、试剂和仪器:

材料、试剂和仪器	来源
聚甲基丙烯酸甲酯、磷酸钙骨水泥、可吸收生物玻璃注射体(生物玻璃-磷酸钙骨水泥复合物)	美国Minneapolis公司
骨形态发生蛋白2试剂盒	济南奥诺生物工程有限公司
转化生长因子β试剂盒	上海基免实业有限公司
钻头、骨蜡	河北省虹宇仪器设备有限公司
Jung K重型切片机、M550显微图像分析系统和QWin V2.3图像分析软件	德国Leica公司
扫描电镜(SEM)Hitachi S-4800	日本日立公司

1.4 实验方法 制作骨质疏松雌性大鼠模型, 具体如下^[19]: 取SD大鼠30只, 全麻仰卧位, 腹部直径10 cm剃毛, 碘伏消毒。下腹正中切口约5 cm, 逐层打开腹腔, 可见肾脏下方呈粉红色、桑椹状的卵巢, 寻找卵巢动静脉和韧带, 一侧卵巢结扎切除; 同法切除另一侧。缝合腹膜及腹肌, 最后缝合皮肤, 1周拆线, 3个月后常规行骨密度扫描, 达到骨质疏松诊断标准即认为造模成功。造模过程中死亡3只, 将造模成功的27只大鼠随机分为3组, 每组9只, 全麻成功后下腰部剃毛, 碘伏消毒。以两侧髂前上棘连线与后正中交点上下5 cm做纵行切口, 逐层剥离, 暴露L₃₋₅节段, 向两侧延迟, 暴露椎体和椎间盘, 用直径3 mm钻头垂直骨面钻孔深5 mm, 建立骨隧道, 3组分别于隧道内置入聚甲基丙烯酸甲酯、注射性磷酸钙骨水泥、可吸收生物玻璃注射体, 轻轻压实材料至骨面, 然后用骨蜡封堵。止血, 冲洗, 缝合伤口。手术过程均在严格无菌条件下进行, 术前和术后3 d用青霉素预防感染, 术后分笼饲养, 自由活动与进食。

1.5 主要观察指标 置入后12周, 离断置入材料节段椎体, 进行以下检测。

组织学检测: 用甲基丙稀酸甲酯进行包埋, 制作不脱钙骨组织切片。切片经Van Giemsa染色(脱蜡、苏木精深染10-15 min、Van Giemsa中染30 s、蒸馏水冲洗、60 °C温箱烘干、二甲苯透明、封固), 40倍镜下采用Lecia显微图像分析系统, 利用Lecia QWin多功能彩色病理图

像分析软件对骨组织切片进行观察和形态计量学分析, 根据国际通用公式计算骨小梁相对体积、厚度和数量^[5], 测量3次, 取其平均值。

力学性能: 使用万能力学测试仪测量抗压强度, 连杆器推进速度为 1 mm/min, 在 37 °C、100%相对湿度下固化 1 d 的抗压强度, 抗压强度=F最大/A, 其中F最大为试样断裂时的最大载荷, A为横截面积, 测量3次, 取其平均值。

降解率: 试样称质量后, 按质量体积比0.2 g/mL 加入模拟体液, 并在37 °C、100%相对湿度下浸泡28 d, 每天更换模拟体液1次。取出试样, 去离子水冲洗后室温下晾干, 用扫描电镜观察其表面形态结构。降解率即试样质量丢失, $D = [(m_0 - m_t) / m_0] \times 100\%$, D代表体外降解率, m_0 及 m_t 分别是材料浸泡前及浸泡后的干质量, 测量3次, 取其平均值。

血液指标检测: 尾静脉取血约3 mL, 3 000 r/min 离心约20 min, -70 °C冰箱保存集中送检。血清Ca和P水平采用常规生化法检测, 碱性磷酸酶采用ELISA法检验; 骨形态发生蛋白2和转化生长因子 β 水平测定采用ELISA法检验, 严格按照说明书进行操作。

骨密度: 采用双能X射线骨密度仪小动物测量软件测定骨密度值。

1.6 统计学分析 采用SPSS 20.0软件进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素ANOVA分析, 两两比较采用LSD法检验; 计数资料采用例数或百分数(%)表示, 组间比较采用 χ^2 检验; $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 造模成功27只SD大鼠均进入结果分析。

2.2 各组力学性能和降解性能的比较

力学性能: 可吸收生物玻璃注射体组压缩强度显著高于磷酸钙骨水泥组和聚甲基丙烯酸甲酯组($P < 0.05$), 磷酸钙骨水泥组压缩强度显著高于聚甲基丙烯酸甲酯组($P < 0.05$), 见表1。

降解性能: 可吸收生物玻璃注射体组降解性显著大于其他两组($P < 0.05$), 磷酸钙骨水泥组降解性显著大于聚甲基丙烯酸甲酯组($P < 0.05$), 见表1。同时发现, 可吸收生物玻璃注射体组表面羟基磷灰石沉积量显著高于其他两组($P < 0.05$), 磷酸钙骨水泥组羟基磷灰石沉积量显著高于聚甲基丙烯酸甲酯组($P < 0.05$), 见图1。

2.3 各组骨小梁相对体积、厚度和数量的比较 可吸收生物玻璃注射体组骨小梁排列相对整齐, 宽度一致, 断裂较少, 无髓腔扩大现象, 骨小梁相对体积、厚度和数量均显著大于其他两组($P < 0.05$); 聚甲基丙烯酸甲酯组、磷酸钙骨水泥组骨小梁排列较紊乱, 断裂较多, 髓腔扩大, 磷酸钙骨水泥组骨小梁相对体积、厚度和数量显著大于聚甲基丙烯酸甲酯组($P < 0.05$), 见表2, 图2。

2.4 各组血液指标和骨密度值的比较 可吸收生物玻璃注射体组Ca、碱性磷酸酶、骨形态发生蛋白2、转化生长因子 β 及骨密度值显著高于磷酸钙骨水泥组、聚甲基丙烯酸甲酯组($P < 0.05$), P水平显著低于磷酸钙骨水泥组、聚甲基丙烯酸甲酯组($P < 0.05$); 磷酸钙骨水泥组与聚甲基丙烯酸甲酯组上述指标比较差异亦有显著性意义($P < 0.05$), 见表3。

3 讨论 Discussion

骨质疏松症作为一种因骨质脆弱而导致骨折的慢性疾病, 已成为世界共同面对的健康问题。在 50 岁以上人群中, 女性发病率为 1/3, 男性发病率为 1/5。骨骼生长、更新和修复过程包括成骨细胞主导的骨形成过程和破骨细胞调节的骨吸收过程。就正常成年动物而言, 骨骼中骨形成和骨吸收之间处于动态平衡。骨质疏松等骨科疾病, 就是由于在骨重建过程中失去了这种动态平衡, 而出现骨吸收速度超过骨形成速度, 导致骨细胞数量减少。骨重建分 3 个阶段: 破骨细胞吸附在骨表面吸收少量骨形成凹陷; 成骨细胞进入凹陷形成新骨; 骨基质矿化, 新形成的骨与吸收的骨相当。若被破骨细胞吸收的凹陷未被新骨填满, 新生骨量少于被吸收骨量即发生负平衡, 导致骨总量的丢失, 引起骨质疏松症。

3.1 骨质疏松症模型分类 根据骨质疏松症的发病机制, 目前临床中主要有 7 种动物模型。绝经后骨质疏松症模型是通过手术或药物“去势法”, 模拟人类绝经后雌激素缺乏而导致的骨质疏松^[20], 最符合人体骨质疏松的发病特点, 为目前研究骨质疏松症模型应用最多的模型方法。老年性骨质疏松症模型即 SAMP6, 为快速自发老年性骨质疏松模型, 具有低峰值骨量、低骨密度、随增龄表现骨量减少并伴成骨细胞形成减少等特点, 是目前惟一一种能证明增龄性骨脆性骨折的理想模型^[21]。老年男性骨质疏松症模型可通过雄性大鼠去睾 18 周, 腰椎、股骨近端均出现骨丢失, 表现为高转换型骨代谢, 骨吸收大于骨形成^[22]。内分泌代谢性骨质疏松症模型可通过雌性 Wistar 大鼠制成糖尿病模型后进行去势手术,

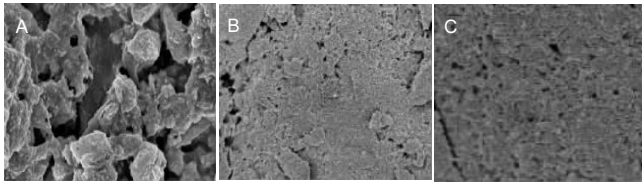


图 1 扫描电镜观察各组材料表面羟基磷灰石沉积量($\times 400$)
Figure 1 Amount of hydroxyapatite deposition of all groups under scanning electron microscope ($\times 400$)

图注: 图中 A-C 分别为聚甲基丙烯酸甲酯组、磷酸钙骨水泥组、可吸收生物玻璃注射体组。可吸收生物玻璃注射体组羟基磷灰石沉积量最多, 聚甲基丙烯酸甲酯组最少。

表 1 各组力学性能和降解性能的比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparisons of compression strength and weight loss among groups

组别	压缩强度(MPa)	失重率(%)
聚甲基丙烯酸甲酯组	26.8 \pm 5.3	7.4 \pm 1.3
磷酸钙骨水泥组	34.4 \pm 5.5	9.2 \pm 1.6
可吸收生物玻璃注射体组	43.5 \pm 5.7	15.6 \pm 1.9
<i>F</i>	4.326	4.758
<i>P</i>	0.039	0.036

表 3 各组血液指标和骨密度值的比较
Table 3 Comparisons of serum indexes and bone mineral density among groups

组别	Ca(mmol/L)	P(mmol/L)	碱性磷酸酶(U/L)	骨形态发生蛋白 2(ng/L)	转化生长因子 β (μ g/L)	骨密度(mg/cm ²)
聚甲基丙烯酸甲酯组	3.1 \pm 0.5	4.8 \pm 1.2	157.8 \pm 43.6	43.5 \pm 10.2	84.7 \pm 23.4	115.7 \pm 23.6
磷酸钙骨水泥组	3.4 \pm 0.6	4.5 \pm 1.3	196.4 \pm 42.7	51.3 \pm 12.6	92.8 \pm 32.5	134.2 \pm 25.4
可吸收生物玻璃注射体组	3.7 \pm 0.5	3.9 \pm 1.1	231.5 \pm 53.2	72.6 \pm 18.7	123.5 \pm 45.7	156.5 \pm 29.7
<i>F</i>	4.957	4.638	4.524	5.217	5.632	5.302
<i>P</i>	0.029	0.032	0.034	0.027	0.024	0.026

糖尿病+绝经可表现骨质疏松症^[23]。营养缺乏性骨质疏松症模型, 通过高蛋白低钙饮食可模拟膳食不平衡导致的骨质疏松, 可能更具现实意义^[24]。药物性骨质疏松症模型通过糖皮质激素、维甲酸导致骨质疏松^[25]。失用性骨质疏松症模型通过全身或局部制动方法来模拟临床中继发骨折或其他手术后不同程度的制动, 而导致的骨质疏松^[26]。

3.2 可吸收生物玻璃注射体的性能 将不同比例的生物玻璃加入磷酸钙骨水泥中, 混匀后固化发现, 随着加入生物玻璃含量的增加, 可吸收生物玻璃注射体固化时间逐渐延长, 可注射性能显著改善, 且均未出现分层现象^[27]。磷酸钙骨水泥的主要缺点是力学性能不稳定和骨化率低^[28]。另外, 在血供不丰富和骨质疏松的老年患者中, 磷酸钙骨水泥缺乏足够的骨传导作用而无法达到完

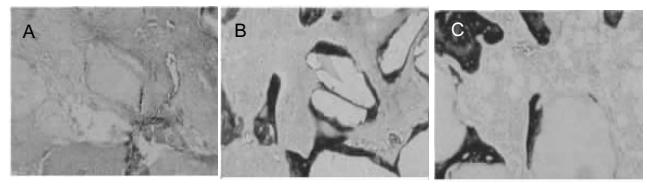


图 2 各组骨小梁相对体积、厚度和数量的观察(Van Giemsa 染色, $\times 400$)
Figure 2 Observations of relative volume, thickness and number of bone trabeculae in each group (van Giemsa staining, $\times 400$)

Figure 2 Observations of relative volume, thickness and number of bone trabeculae in each group (van Giemsa staining, $\times 400$)

图注: 图中 A-C 分别为聚甲基丙烯酸甲酯组、磷酸钙骨水泥组、可吸收生物玻璃注射体组。可吸收生物玻璃注射体组骨小梁排列相对整齐, 宽度一致, 断裂较少, 无髓腔扩大现象, 骨小梁相对体积、厚度和数量均显著大于其他两组; 聚甲基丙烯酸甲酯组、磷酸钙骨水泥组骨小梁排列较紊乱, 断裂较多, 髓腔扩大。

表 2 各组骨小梁相对体积、厚度和数量的比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Comparisons of relative volume, thickness and number of bone trabeculae among groups

组别	相对体积(%)	厚度(μ m)	数量(mm)
聚甲基丙烯酸甲酯组	9.7 \pm 1.3	25.4 \pm 3.5	4.2 \pm 0.6
磷酸钙骨水泥组	11.2 \pm 1.5	27.8 \pm 3.6	4.5 \pm 0.7
可吸收生物玻璃注射体组	15.3 \pm 1.7	32.6 \pm 3.8	5.1 \pm 0.9
<i>F</i>	4.325	4.623	5.102
<i>P</i>	0.037	0.034	0.028

($\bar{x} \pm s$)

全的骨修复^[29], 而可吸收生物玻璃注射体可弥补磷酸钙骨水泥的上述缺点, 表现出较佳的骨传导性和诱导性。

可注射型生物玻璃的主要成分为 SiO_2 、 CaO 、 P_2O_5 和 Na_2O , 与人体骨类似, 能够在材料界面与人体骨组织之间形成牢固化学键, 增加连接强度, 提高移植体与界面的稳定性, 传导性优于磷酸钙骨水泥^[30]。体内实验表明, 生物玻璃置入体内后 1 个月可在 HCA-胶原层内发现大量成熟骨细胞, 3 个月可完成矿化^[31]。生物玻璃具有较好的生物相容性和生物活性, 良好的骨传导和骨诱导活性, 能在组织与材料之间诱导活跃的细胞内外反应。Yuan 等^[32]研究将 45S5 型生物玻璃制成多孔圆柱体, 置入犬肌袋中, 3 个月后组织学观察发现植入物内有骨组织形成, 证实生物玻璃具有骨诱导活性。Kirk 等^[33]以明胶为基质、生物玻璃粉末和同种异体骨粉复合形成的生物

材料具有良好的骨传导及骨诱导活性。此次实验得出, 可吸收生物玻璃注射体组的压缩强度和失重率显著增加, 表面羟基磷灰石沉积量增多, 显微结构骨小梁相对体积、厚度和数量均显著增加, 与体外实验基本吻合^[34]。

目前, 抗骨质疏松的治疗主要靶向破骨细胞, 抑制骨吸收, 但这并不能有效增加骨密度和降低骨折发生风险。成骨细胞主要来源于骨祖细胞, 具有活跃的分泌功能, 能合成和分泌骨基质中的多种有机成分, 对骨生长有重要作用; 此外, 还分泌破骨细胞刺激因子、前胶原酶和骨质素原激活剂, 它们有促进骨吸收的作用。成骨细胞的主要功能概括起来有: 产生胶原纤维和无定形基质, 即形成类骨质; 分泌骨钙蛋白、骨粘连蛋白和骨唾液酸蛋白等非胶原蛋白, 促进骨组织矿化; 细胞表面存在多种骨吸收刺激因子的受体, 并能分泌一些细胞因子, 调节骨组织的形成和吸收。生物玻璃颗粒表面缓慢释放的可溶性离子, 能够刺激细胞发生自分泌反应, 包括骨形态发生蛋白、转化生长因子、类胰岛素生长因子、血小板衍生因子及成纤维细胞生长因子等多种骨诱导分子^[35], 这些因子不仅在局部, 在全身血液中仍可保持高浓度、持续释放, 有效提高造骨细胞活性, 加速骨及软骨生成, 提高置入成功率^[36]。研究证实, 骨形态发生蛋白 2 和转化生长因子 β 水平在促进成骨方面发挥重要作用, 其水平高低与骨折愈合呈明显相关关系^[37]。实验得出, 可吸收生物玻璃注射体组骨形态发生蛋白 2 和转化生长因子 β 水平显著高于其他两组, 差异均有显著性意义, 表明可吸收生物玻璃注射体可能通过上调骨形态发生蛋白 2 和转化生长因子 β 的表达水平, 发挥成骨生物学效应。

3.3 可吸收生物玻璃注射体的不足 当然, 与人体骨组织相比, 生物玻璃仍然存在一定缺陷, 如生物玻璃含有硅, 硅在体内不能降解, 并且其代谢机制目前仍不很清楚, 不论生物玻璃在人体内置入时间的长短, 其最终不可能转化为与人体骨组织类似的物质^[38]。而磷酸钙骨水泥可任意塑形, 具有良好的生物相容性、骨传导性及可降解被新生骨替代等特点, 具有广阔的临床应用价值^[39]。新型可吸收生物玻璃注射体吸收两者优点, 预计有更佳的应用空间。

3.4 研究的创新点和不足 研究对目前应用较多的 3 类生物材料在骨质疏松模型中的生物性能和成骨特点进行了比较分析, 证实新型可吸收生物玻璃注射体不仅具有生物玻璃注射体较好的生物相容性, 同时具有骨水泥较强的机械性能, 有较大的应用价值。实验未对不同时间点的各观察指标进行比较, 同时还需要进一步通过

体外细胞实验分析成骨机制和体内临床研究分析治疗效果, 以期更全面地了解新型可吸收生物玻璃注射体在骨质疏松患者中的应用安全性和有效性。

综上所述, 新型可吸收生物玻璃注射体可增强骨质疏松椎体内支撑力, 诱导成骨, 可能与提高骨形态发生蛋白 2 和转化生长因子 β 有关, 是一种十分有应用前景的生物材料。

致谢: 感谢湖北医药学院动物实验中心的老师。

作者贡献: 边竟进行实验设计, 实验实施为陈文, 实验评估为龚泰芳, 资料收集为陈文, 边竟成文, 郑红梅审核。

利益冲突: 所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

伦理问题: 实验方案经湖北医药学院动物实验伦理委员会批准, 批准号 HYY20150027。实验动物在麻醉下进行所有的手术, 并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 本刊实行双盲外审制度, 文章经国内小同行外审专家审核, 符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 边竟对于研究和撰写的论文中出现的不良行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

4 参考文献 References

- [1] Zhang YP, Xia RY, Zhang B, et al. Gender Differences on Osteoporosis Health Beliefs and Related Behaviors in Non-academic Community Chinese. *J Community Health*. 2014;39(3):545-551.
- [2] Bonura F. Prevention, screening, and management of osteoporosis: an overview of the current strategies. *Postgrad Med*. 2009;121(4):5-17.
- [3] 吴建斌. 不同填充材料及脂肪源干细胞移植对骨质疏松大鼠的影响[D]. 南方医科大学, 2013.
- [4] Marciniak C, Gabet J, Lee J, et al. Osteoporosis in adults with cerebral palsy: feasibility of DXA screening and risk factors for low bone density. *Osteoporos Int*. 2015; 17(1):1-3.
- [5] 中国老年学学会骨质疏松委员会骨质疏松诊断标准学科组. 中国人原发性骨质疏松症诊断标准(试行)[J]. *中国骨质疏松杂志*, 1999, 5(7):1-3.
- [6] 胡军, 张华, 牟青. 骨质疏松症的流行病学趋势与防治进展[J]. *临床荟萃*, 2011, 26(8):729-731.

- [7] 杨卫红,周建烈.补充钙和维生素D预防骨质疏松性骨折疗效述评[J].中国骨质疏松杂志,2008,14(11):797-803.
- [8] 刘明,潘薇,陈德才.甲状旁腺激素治疗骨质疏松症的研究进展[J].中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2012,5(2):151-156.
- [9] 杨丰建,林伟龙,朱炯,等.经皮椎体成形术和经皮椎体后凸成形术治疗骨质疏松性椎体压缩骨折[J].中国脊柱脊髓杂志,2011,21(1):50-54.
- [10] Xu HHK, Zhao L, Detamore MS, et al. Umbilical cord stem cell seeding on fast-resorbable calcium phosphate bone cement. *Tissue Eng Part A*. 2010;16:2743-2753.
- [11] Puska M, Moritz N, Aho AJ, et al. Morphological and mechanical characterization of composite bone cement containing polymethylmethacrylate matrix functionalized with trimethoxysilyl and bioactive glass. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2015;59:11-20.
- [12] Friedmann DP, Kurian A, Fitzpatrick RE. Delayed granulomatous reactions to facial cosmetic injections of polymethylmethacrylate microspheres and liquid injectable silicone: A case series. *J Cosmet Laser Ther*. 2016;6(1):1-13.
- [13] 叶冬平,周子强,梁伟国.一种可注射自固化含锶复合胶原磷酸钙骨水泥的结构和性能[J].中国组织工程研究与临床康复,2009,13(38):7411.
- [14] Ginebra MP, Canal C, Espanol M, et al. Calcium phosphate cements as drug delivery materials. *Adv Drug Del Rev*. 2012;64(1):1090-1110.
- [15] Hoppe A, Guldal NS, Boccaccini AR. A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics. *Biomaterials*. 2011;32(11):2757-2774.
- [16] Gerhardt LC, Widdows KL, Erol MM, et al. The pro-angiogenic properties of multi-functional bioactive glass composite scaffolds. *Biomaterial*. 2011;32(17):4096-4108.
- [17] Hautamaki M, Meretoja VV, Mattila RH, et al. Osteoblast response to polymethyl methacrylate bioactive glass composite. *J Mater Sci Mater Med*. 2010;21:1685-1692.
- [18] 于龙.可注射生物玻璃-磷酸钙骨水泥复合生物材料的实验研究[D].第四军医大学,2013.
- [19] 李素萍.骨质疏松动物模型的研究现状[J].中国组织工程研究与临床康复,2011,15(20):3767-3770.
- [20] 虞惊涛,马信龙,马剑雄.骨质疏松动物模型评价方法[J].中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2014,7(1):66-70.
- [21] 张智海,刘忠厚,李娜,等.中国人骨质疏松症诊断标准专家共识(第三稿·2014版)[J].中国骨质疏松杂志,2014,20(9):1007-1010.
- [22] Huan ZG, Chang J. Calcium-phosphate-silicate composite bone cement: self-setting properties and in vitro bioactivity. *J Mater Sci: Mater Med*. 2009;20(1):833-841.
- [23] Lanao RPF, Leeuwenburgh SCG, Wolke JGC, et al. In vitro degradation rate of apatite calcium phosphate cement with incorporated PLGA microspheres. *Acta Biomater*. 2011;7(1):3459-3468.
- [24] 卢锦东,谢平金.骨质疏松大鼠造模法研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2015,17(5):248-251.
- [25] 郭鱼波,马如风,王丽丽,等.骨质疏松动物模型及其评价方法的研究进展[J].中国骨质疏松杂志,2015,21(9):1149-1154.
- [26] Zhang YF, Han JX. Progress in research on animal model of osteoporosis. *Prog Vet Med*. 2005;12(3):8-11.
- [27] Ryf C, Goldhahn S, Radziejewski M, et al. A new injectable brushite cement: first results in distal radius and proximal tibia fractures. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2009;35(6):389-396.
- [28] Rojbani H, Nyan M, Ohka K, et al. Evaluation of the osteoconductivity of α -tricalcium phosphate, β -tricalcium phosphate, and hydroxyapatite combined with or without simvastatin in rat calvarial defect. *J Biomed Mater Res Part A*. 2011;98(3):488-498.
- [29] 樊博,王臻,吴畅,等.生物玻璃条索修复骨缺损的有效性研究[J].解放军医学杂志,2014,39(4):283-287.
- [30] 李阳,吴子祥,雷伟.生物玻璃生物学性能及其临床应用[J].国际骨科学杂志,2012,33(3):160-162.
- [31] 李阳,雷伟,王征,等.生物玻璃和壳聚糖改性的多孔活性骨水泥体内实验研究[J].中国修复重建外科杂志,2013,27(3):320-325.
- [32] Yuan H, Bruijn JD, Zhang X, et al. Bone induction by porous glass ceramic made from Bioglass(45S5). *J Biomed Mater Res*. 2001;58(3):270-276.
- [33] Kirk JF, Ritter G, Waters C, et al. Osteoconductivity and osteoinductivity of NanoFUSE[®] DBM. *Cell Tissue Bank*. 2012;14(1):33-44.
- [34] 李玉莉,陈晓峰,韩雪,等.微纳米生物玻璃的体外成骨性能研究[J].中国材料进展,2012,31(6):7-12.
- [35] 郑德宇,杨依勇,赵凯,等.生物玻璃活性陶瓷复合人骨形态发生蛋白2基因修饰骨髓间充质干细胞修复颅骨缺损[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(42):7807-7810.
- [36] 李扬,刘怡卓,郭亚平,等.介孔生物玻璃对人骨髓间充质干细胞早期黏附增殖行为的影响[J].生物骨科材料与临床研究,2013,10(4):8-14.
- [37] Ghodasra JH, Weatherford BM, Nickoli MS, et al. The effect of rhBMP-2 in a novel, non-instrumented extremity nonunion model. *J Orthop Sci*. 2015;28(12):23-25.
- [38] 沈宇辉,邓廉夫,潘浩波,等.含锶可降解生物陶瓷及生物玻璃骨植入材料研究进展[J].国际骨科学杂志,2011,32(2):75-77.
- [39] 孙君超,肖荣驰.生物活性玻璃复合材料研究进展[J].生物骨科材料与临床研究,2011,8(3):27-30.