

# 钛框架/CPC/BMP 复合人工骨的钙磷碳变化规律

刘亚雄, 李涤尘, 连芩, 王会友, 靳忠民

(西安交通大学机械制造系统工程国家重点实验室, 710049, 西安)

**摘要:** 为了解决磷酸钙骨水泥(CPC)/骨形态发生蛋白(BMP)植入体强度低的缺陷,提出一种钛框架/CPC/BMP 复合结构的植入体,参考犬桡骨半月形断面及尺寸,利用计算机辅助设计与加工方法完成了相似形状的钛框架设计与制造,并将糊状 CPC 填充晾干后植入犬桡骨部位.通过动物实验,分析研究了钙磷碳的变化规律,得出了植入体钙磷碳变化模型.研究表明:植入体内的碳含量按二次抛物线增长,钙和磷的含量按线性规律递减,钙磷比则保持稳定;钛框架上有孔处的钙磷碳变化效率明显高于无孔处的变化效率.研究结果不仅为设计钛框架的形状提供了依据,而且证实了这种植入体的钛框架在不明显影响降解速度的条件下具有较好的支撑作用,因此扩大了 CPC 的临床应用范围.

**关键词:** 磷酸钙骨水泥;骨形态发生蛋白;钛框架

**中图分类号:** TH122;R68 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-987X(2010)05-0031-04

## Transformation Patterns of Ca-P-C in CPC/BMP Implant with Titanium Frame

LIU Yaxiong, LI Dichen, LIAN Qin, WANG Huiyou, JIN Zhongmin

(State Key Laboratory for Manufacturing Systems Engineering, Xi'an 710049, China)

**Abstract:** A new implant composed of calcium phosphate cement(CPC)/bone morphogenetic protein(BMP)/titanium frame is introduced to mend the low strength of CPC/BMP. Referring to the half-moon sections and sizes of canine radius, similarly shaped Ti-frame is designed and fabricated with computer-aided design and processing methods, then filled with CPC and implanted into the radial position of tested canine. By the animal experiment of half a year and succeeding experiment, the bone reconstruction model of this implant is built up. The results confirm that the atomic content of C increases following quadratic parabola, Ca and P contents decrease linearly but slowly, the Ca/P ratio keeps steadily; the CPC in the holes on the titanium frame is easier to be transformed than the other area without holes. The research reveals that the Ti-frame, without obvious effect on the degradation rate, fills a role of supporting to extend clinical application of the implant.

**Keywords:** calcium phosphate cement; bone morphogenetic protein; titanium frame

磷酸钙骨水泥(CPC)/骨形态发生蛋白(BMP)是一种常用的骨修复材料,但由于强度低,用于大段骨修复易造成早期人工骨的骨折,因此主要用于小块缺损骨的修复<sup>[1-4]</sup>.为了使 CPC/BMP 进一步适合于大段缺损骨的修复,本文提出了一种含有钛框架

结构的 CPC/BMP/的复合植入体,使植入体的强度大大提高.植入体内钙磷碳成分的变化在一定程度上反映了植入体的降解和组织转化速度,为了掌握钛框架结构对植入体钙磷碳变化效率的影响,本文还对钙磷碳变化的规律进行了动物实验和后续的分

析研究.

# 1 材料制备

## 1.1 动物准备

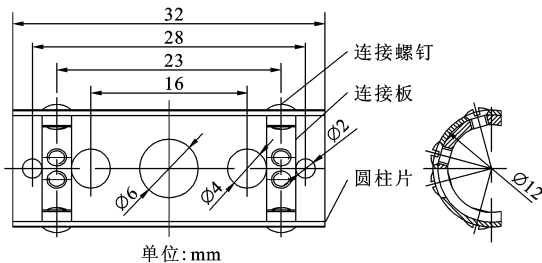
实验动物及其试件植入期见表 1 和表 2,为了与体外的 CPC/BMP 试件进行比较,对体外试件 C0 也进行了测试.

| 表 1 动物准备 |      |       |      |      |
|----------|------|-------|------|------|
| 动物       | 数量/条 | 质量/kg | 植入部位 | 固定方式 |
| 狗        | 6    | 20~25 | 左前桡骨 | 石膏   |

| 表 2 试件植入期 |    |    |    |       |     |
|-----------|----|----|----|-------|-----|
| 植入期/d     | 0  | 26 | 76 | 141   | 188 |
| 试件编号      | C0 | C1 | C2 | C3,C4 | C5  |

## 1.2 钛框架的制备以及试件的复合

由于狗桡骨的截面形状接近于半圆柱形,因此将 6 个试件所用的钛框架设计成统一的形状和尺寸,钛框架被设计成多孔结构(孔径分别为 6 mm、2 mm;4 mm、2 mm;2 mm),材料为 Ti6Al4V. 如图 1a 所示,为了便于去除钛框架,钛框架由 2 个 1/4 圆柱通过连接板及螺钉组成半圆柱形,将钛框架和 CPC/BMP 复合组装在一起. BMP 采用国产成熟产品,基本成分为 BMP2、BMP4 和 BMP7 的混合物,每一试件按 3.5 mL 配置. CPC 采用国内某公司生产的自固化磷酸钙粉状骨水泥,将 BMP 和 CPC 的固化剂混合成混悬液,与 CPC 搅拌成面团状,然后填入钛框架槽中,在干燥罐中固化. 图 1b 是完成复合组装后的试件.



(a) 钛框架设计



(b) 填充 CPC 后的复合人工骨  
图 1 钛-CPC 复合人工骨

# 2 动物实验分析

手术后 1 个月,有 1 条狗因感染导致非正常死亡. 在手术后第 2 个月,为所有实验狗拆去石膏,发现它们恢复良好. 根据表 2 中的植入期分别取出试件进行后续光学显微镜观察、组织切片观察和能谱分析.

## 2.1 光学显微镜观察

采用日本 KEYENCE 公司的 VH-8000 光学显微镜对各试件的实验时间进行观察分析. 图 2 显示的是对应于试件 C4 三处小孔处的降解情况,图中显示出 CPC 中已生成大量血管,且粗细不等,这些血管在 CPC 与金属的接壤界面处分布较密. 图 3 是对应于 C5 试件连接板处的断面,可看到断面处的 CPC 几乎完全被降解<sup>[5]</sup>.

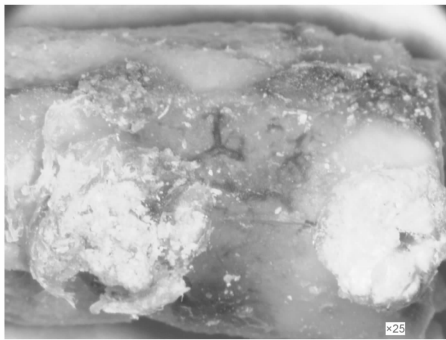


图 2 对应于三处小孔的降解情况

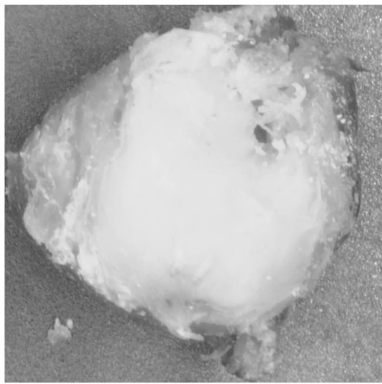


图 3 对应于 C5 试件连接板处的横断面

## 2.2 组织切片观察

采用德国 Leica 半自动组织切片机进行组织切片,采用 HE(苏木精、伊红)着色,利用 VH-8000 显微镜进行观察. 图 4 是 C4 试件上位于  $\varnothing 6$  mm 和  $\varnothing 4$  mm 孔之间的内部组织切片图,图中箭头所指处有血管生成,旁边有血管内皮细胞.

## 2.3 能谱分析

能谱测定中,C0、C1~C4 试件采用 JEOL 公司

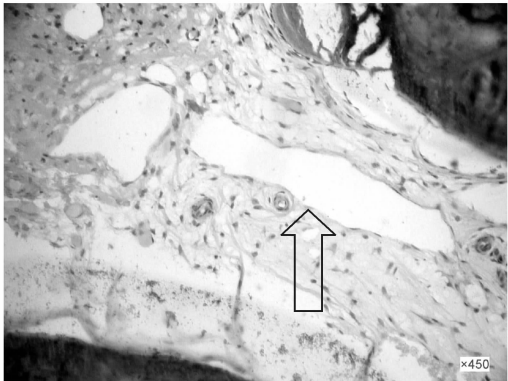


图 4 断面处的组织切片图

的 JSM-840 扫描电镜附带的能谱分析仪进行测定, C5 试件采用 PHILIPS 公司的 XL20 扫描电镜和 DX-4 能谱分析仪进行测定. 表 3 是对各期试件进行能谱分析的结果, 表中  $n$  为元素的摩尔分数,  $m$  为钙、磷元素的原子数之比(简称钙磷比).

表 3 试件的能谱分析结果

| 试件 | $n_C/\%$ | $n_{Ca}/\%$ | $n_P/\%$ | $m$  |
|----|----------|-------------|----------|------|
| C0 | 15.3     | 20.4        | 12.10    | 1.70 |
| C1 | 15.3     | 21.1        | 11.90    | 1.80 |
| C2 | 17.2     | 19.6        | 10.80    | 1.75 |
| C3 | 26.8     | 15.8        | 9.45     | 1.68 |
| C4 | 26.8     | 15.8        | 9.45     | 1.68 |
| C5 | 42.2     | 15.4        | 8.20     | 1.86 |

3 钙磷碳变化规律的探讨

3.1 血管和骨组织的形成及其含碳量的变化

由光镜及组织切片观察显示, C4 试件植入体内在第 141 d 时, CPC 已大部分降解, 到第 188 d 时几乎已全部降解. 含碳量的变化在一定程度上反映了植入体内部有机物的转化状况, 从图 5 中可知, 碳的含量呈加速增长趋势, 符合二次抛物线规律.

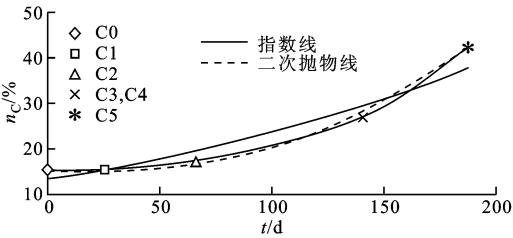


图 5 植入体内  $n_C$  的变化趋势

在第 188 d 取出的 C5 试件中,  $n_C$  急剧上升, 并达到了 42%, 说明试件内部的有机物含量大幅上升, 而无机物含量则急剧下降, 因此试件不再以 CPC 为主, 而是以新生组织为主体的生物体.

当实验犬至术后第 188 d 时, 仍未形成完善的骨性连接, 这远低于正常的骨愈合时间(成人长管状骨约需 100 d). 根据观察, 主要原因是植入物与犬自体骨缺损的不匹配导致了两者接触面积较小, 而单纯石膏固定不能形成有效的牢固固定, 因此不利于形成稳定的骨性连接, 影响了骨缺损的修复.

根据表 3 中的数据, 可得到复合植入体中钙磷碳含量的变化模型

$$n_C = at^2 + bt + c \tag{1}$$

$$n_C = 0.001\ 1\ t^2 - 0.064\ 1\ t + 15.857 \tag{2}$$

或

$$n_C = 0.000\ 58t^2 + 15.2 \tag{3}$$

式中:  $a$ 、 $b$ 、 $c$  为随模型变化的常数;  $t$  为人工骨的植入时间. 由于  $n_C$  不可能无限制地增长, 因此式(1)和式(2)仅在一定时期内有效.  $n_C$  的加速上升证明了试件内钙磷碳的变化呈加速趋势.

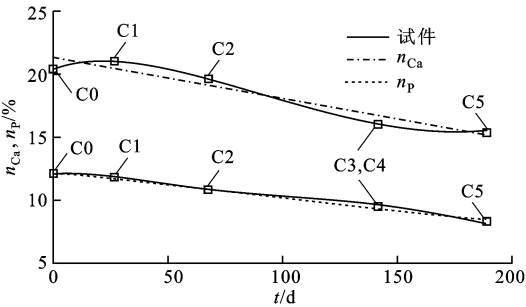
3.2 钙、磷含量的变化趋势

由图 6 可知,  $n_{Ca}$ 、 $n_P$  均稳定地减小, 基本呈线性变化, 但  $n_{Ca}$  的降低速度较慢, 而  $m$  的变化也不大, 这一趋势说明 CPC 在降解的过程中,  $n_{Ca}$ 、 $n_P$  被吸收的速度基本是一致的,  $m$  保持平稳说明 CPC 中的钙和磷参与体内代谢是稳定的, 容易被机体所适应. 如果用  $n_{Ca}$ 、 $n_P$  的变化速度作为表征 CPC 降解速度的一个指标, 则容易得到

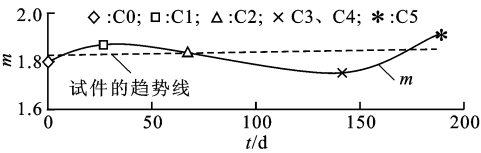
$$v_{Ca} = \Delta n_{Ca} / \Delta t \tag{4}$$

$$v_P = \Delta n_P / \Delta t \tag{5}$$

式中:  $v_{Ca}$ 、 $v_P$  分别表示钙和磷的 CPC 降解速度, 单位为  $d^{-1}$ .



(a) 植入体内  $n_{Ca}$ 、 $n_P$  的变化趋势



(b) 植入体内  $m$  的变化趋势

图 6 钙、磷含量及钙磷比的变化趋势

根据图6中的数据得出  $v_{Ca}=0.032\text{ d}^{-1}$ ,  $v_P=0.0234\text{ d}^{-1}$ , 即为CPC在植入狗桡骨部位后, 在一定时间内的钙磷碳变化速度, 由此可见CPC的降解和钙磷碳的变化速度是比较低的. 钙磷碳变化的第2和第3模型如下

$$(n_{Ca})_t = (n_{Ca})_0 - v_{Ca}t \quad (6)$$

$$(n_P)_t = (n_P)_0 - v_Pt \quad (7)$$

将式中的  $v_{Ca}$  和  $v_P$  以具体值代入得

$$(n_{Ca})_t = 21 - 0.032t \quad (8)$$

$$(n_P)_t = 12.4 - 0.0234t \quad (9)$$

由于狗桡骨的  $m=1.15$ , 因此钙和磷的降解速度不可能长期维持一致. 根据本次实验测定结果及相关资料<sup>[6]</sup>, CPC植入前  $m=1.7$ , 这与人的密质骨 ( $m=1.7$ 左右)较接近, 因此只有当CPC植入人体时才有可能使钙和磷的代谢速度保持相对一致.

### 3.3 钛框架的作用分析

实验植入体中的CPC均没有整体断裂或碎裂的情况出现, 说明钛框架对植入体具有明显的支撑作用, 能有效地防止植入体植入早期的折断和碎裂. 钛框架对植入体的遮挡作用会影响钙磷碳的变化规律, 通过能谱分析, 还进一步发现了植入体上靠近钛框架小孔处的含碳量较高, 而该处钙、磷的含量则极低. 此现象证明钛框架的网孔能使周围组织与植入体中的CPC形成直接接触, 使该处的降解和钙磷碳的变化速度大大提高. 因此, 设计钛框架时在保证强度的条件下, 应尽可能增加活性材料的暴露面积. 由于同样尺寸的无钛框架CPC植入体在植入后极易碎裂或断裂, 因此本文实验未设置无钛框架CPC植入体作为对照, 主要是通过分析钛框架上有网孔处和被遮挡处钙磷碳变化的差异来判断钛框架的遮挡作用.

## 4 结束语

通过长达半年的动物实验以及后续光镜观察、组织切片观察和能谱分析, 对含有钛框架的植入体的钙磷碳变化规律进行了研究, 特别是对钙磷碳的成分和钙磷比的变化规律进行了定量分析, 这些指标均反映了该植入体的化学物质变化的规律特点.

实验表明, 碳的含量按二次抛物线规律加速增长, 钙、磷的含量基本按线性规律递减, 而钙磷比则在一定时间内相对保持稳定. 这些结论对设计含有钛框架增强结构的CPC/BMP植入体具有一定的参考价值.

### 参考文献:

- [1] YUAN Huipin, LI Yubao, BRUIJN J D, et al. Tissue responses of calcium phosphate cement: a study in dogs [J]. *Biomaterials*, 2000, 21(12): 1283-1290.
- [2] TAKAGI S, CHOW L C, ISHIKAWA K. Formation of hydroxyapatite in new calcium phosphate cements [J]. *Biomaterials*, 1998, 19(17): 1593-1599.
- [3] 周宁峰, 王金武. 负载 rhBMP-2 的 CPC 活性人工骨修复骨缺损的临床应用 [J]. *中国修复重建外科杂志*, 2009, 23(3): 257-260.  
ZHOU Ningfeng, WANG Jinwu. The clinical application of active artificial bone with rhBMP-2/CPC [J]. *Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery*, 2009, 23(3): 257-260.
- [4] CHEN Hongwei, ZHAO Gangsheng. Clinical application of calcium phosphate cement in the repair of bone defects [J]. *China Journal of Orthopaedics and Traumatology*, 2007, 20(6): 376-378.
- [5] 刘亚雄, 李涤尘, 卢秉恒, 等. 具有钛框架增强结构人工骨的降解规律 [J]. *西安交通大学学报*, 2005, 39(1): 9-12.  
LIU Yaxiong, LI Dichen, LU Bingheng, et al. Degradation mechanism of calcium phosphate cement-bone morphogenetic protein artificial bone with Ti frame enhanced structure [J]. *Journal of Xi'an Jiaotong University*, 2005, 39(1): 9-12.
- [6] 李鹏. 自固化磷酸钙人工骨(CPC)修复骨肿瘤骨缺损的初步临床应用 [J]. *生物骨科材料临床研究*, 2008, 5(2): 18-24.  
LI Peng. Preliminary clinical use of auto solidified calcium phosphate cement-bone for repairing bone tumour and bone defect [J]. *Orthopaedic Biomechanics Materials and Clinical Study*, 2008, 5(2): 18-24.

(编辑 管咏梅)