DOI: 10.16016/j.1000-5404.201502120

论著

多孔钽颗粒在下颌骨缺损修复中的作用

钟建鑫[1],节云峰[2],罗金英[1],张 倩[1],朱 璨[1],汪 昆[1],王晓亮[3],周继祥[1] (400038 重庆,第三军医大学西南医院口腔科[1];401120 重庆,重庆润泽医药有限公司[2],611731 成都,四川省食品药品检测院[3])

[摘要] **目的** 评价多孔钽颗粒对下颌骨骨缺损的修复效果。**方法** 首先拔出比格犬双侧下颌前磨牙,待拔牙创愈合后(3个月)采用牙科种植机在下颌骨缺牙区构建颌骨骨缺损模型,随即将多孔钽颗粒(实验组,$n=9$)和Bio-oss骨粉(对照组,$n=9$)分别植入右侧和左侧下颌骨骨缺损区内。半流食喂养3个月后,双侧下颌骨行X线摄片比较2组材料修复骨缺损的能力,然后采用EXAKT切磨机制取硬组织切片,行甲苯胺蓝染色后于显微镜下观察新骨成熟情况。**结果** 3个月后,大体标本和X线摄片发现:实验组和对照组颌骨骨缺损区内均有新骨生成;按照X线评分标准对骨形成及塑形情况进行评价发现:实验组评分高于对照组[(9.54 ± 0.10) *vs* (8.98 ± 0.09),$P<0.05$],差异有统计学意义。硬组织切片染色观察发现:实验组缺损区骨组织较对照组更为成熟,且包绕了大量的多孔钽颗粒,其相互交联呈网状;虽然对照组(Bio-oss骨粉颗粒)周围有较成熟的骨组织包绕,但颗粒之间仍有大量骨陷窝存在。**结论** 实验结果显示多孔钽颗粒具有良好的诱导成骨能力,其修复颌骨缺损效果优于临床常用的Bio-oss骨粉。

[关键词] 多孔钽颗粒;Bio-oss骨粉;颌骨缺损;修复效果
[中图法分类号] R-332;R318.08;R782.23 [文献标志码] A

Effect of porous tantalum pellets on repairing jaw bone defect

Zhong Jianxin[1], Jie Yunfeng[2], Luo Jinying[1], Zhang Qian[1], Zhu Can[1], Wang Kun[1], Wang Xiaoliang[3], Zhou Jixiang[1] ([1]Department of Stomatology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038; [2]Chongqing Runze Pharmaceutical Co. Ltd., Chongqing, 401120; [3]Sichuan Institute for Food and Drug Control, Chengdu, Sichuan Province, 611731, China)

[**Abstract**] **Objective** To evaluate the effect of porous tantalum pellets on repairing jaw bone defect. **Methods** The mandibular premolars of 3 beagle dogs were pulled out. After 3 months, a dental planter was used to construct a bone defect model. Immediately, porous tantalum pellets (experimental group, $n=9$) or Bio-oss bone (control group, $n=9$) were transplanted into the right and left defect areas. After 3 months, X-ray filming was used to elucidate bone formation and bone modeling. Moreover, the bones were cut into slices with an EXAKT slicer, and toluidine blue staining was used to observe bone maturity. **Results** After 3-month transplantation, the gross specimen and X-ray imaging demonstrated that new bones were found in both the control group and the experiment group, but the bone modeling was significantly higher in the experiment group than in the control group (9.54 ± 0.10 *vs* 8.98 ± 0.09, $P<0.05$). Toluidine blue staining demonstrated that bone was more mature in the experiment group, and was inserted into the porous tantalum pellets. However, many bone sags were observed at the periphery of Bio-oss bone in the control group. **Conclusion** Porous tantalum pellets can better induce bone formation and repair the jaw bone defect than Bio-oss bone.

[**Key words**] porous tantalum pellets; Bio-oss bone; jaw bone defect; repairing effect

Corresponding author: Zhou Jixiang, Tel: 86-23-68754387, E-mail: Zhoujx6518@sina.com

临床上常见因手术切除、外伤、拔牙、牙周病、先天性和放射性等因素造成颌骨缺损,进而导致种植时骨量不足,活动义齿修复困难,同时给患者造成一定的生理功能,心理和美观等影响。对于大范围的颌骨骨缺损,临床常采用自体骨移植、钛板及钛网修复;而对小范围的颌骨骨缺损,因骨是一种再生能力较强的组织,常采取引导骨组织再生技术(guide bone regeneration,

[通信作者] 周继祥,电话:(023)68754387,E-mail: Zhoujx6518@sina.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20150514.1137.004.html(2015-05-14)

GBR)修复。较大的骨缺损需求的自体骨量较多,自体骨常取下颌骨的颏部,髂骨或胫骨等部位,需要开辟第二术区,增加创伤感染机会等并发症以及手术时间和手术费用等[1]。Bio-oss 骨粉是目前颌骨缺损常用的修复材料,具有良好的引导骨再生成作用[2],但价格较昂贵。金属钽具有耐腐蚀性且在体内有良好的生物相容性[3];多孔钽材料具有高摩擦系数,高孔隙率,低弹性模量及骨组织内生性特点,是理想的骨科材料,已用于临床关节外科,脊柱外科修复骨缺损[4]。多孔钽颗粒修复颌骨缺损国内外尚未报道,本研究观察多孔钽颗粒对骨缺损诱导成骨的效果,为临床修复颌骨骨缺损提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物

雄性12月龄比格犬3只,由四川省食品药品检测院提供。动物常规喂养,自由饮水。

1.2 主要材料

多孔钽颗粒,直径约1 mm,孔径约10 μm,由重庆润泽医药有限公司提供。瑞士 Bio-oss 骨粉,由金本德山(北京)科贸有限公司提供。瑞士 Bio-gide 骨膜,由金本德山(北京)科贸有限公司提供。

1.3 试剂

2% 利多卡因,5% 戊巴比妥钠,鹿眠灵,10% 甲醛溶液,陆醒灵,鹿眠灵,20% 氯化钾,70% 酒精,碘伏,阿托品注射液,甲苯胺蓝试剂,0.9% 生理盐水。

1.4 实验仪器

EXAKT 切磨片系统,德国;X 线片机,德国;种植机系统,国产;显微镜,拔牙钳。

1.5 方法及步骤

1.5.1 颌骨骨缺损模型的构建 用5% 戊巴比妥钠麻醉比格犬,全麻后拔除比格犬下颌前磨牙,其中1号比格犬下颌左右各拔除3颗前磨牙如图1A;2号比格犬拔除左右各2颗下颌前磨牙,3号拔除左右各4颗前磨牙;3个月自然愈合后,用种植机在缺牙区制备骨缺损,骨缺损模型大小:直径4.2 mm,深7.0 mm;各骨缺损间隔为5 mm;1号比格犬左右各3个骨缺损,2号左右各2个骨缺损,3号左右各4个骨缺损,共计18个骨缺损模型。

1.5.2 实验分组 多孔钽颗粒(实验组,$n=9$)充填比格犬下颌右侧骨缺损如图1B,Bio-gide 胶原膜覆盖缺损表面,术区软组织分层缝合;Bio-oss 骨粉(对照组,$n=9$)充填比格犬左侧下颌骨缺损,Bio-gide 胶原膜覆盖缺损表面,术区软组织分层缝合。

1.5.3 X 射线片及评分 X 线片机拍摄骨缺损区,制取影像图片,以 Lane-Sandhu X 线评分标准评估新骨生成情况。

1.5.4 切磨片制取和染色及光镜观察 多孔钽颗粒和 Bio-oss 骨粉充填骨缺损后3个月,剖取下颌骨,经10% 甲醛溶液固定、乙醇梯度脱水、浸润液浸润、自凝树脂包埋后用 EXAKT 系统切片及磨片,磨片厚度为30 μm,磨片直接经甲苯胺蓝染色显微镜观察新骨生成及矿化情况。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,均数比较采用配对 t 检验。

2 结果

2.1 实验动物及标本肉眼观察情况

3只实验动物比格犬生长良好,术区软组织愈合良好,无炎症表现,无植入材料外露,全部进入结果分析。对照组:缺损区内有新骨生成,剖面新骨与周围界限模糊如图1C。实验组:缺损区表面骨组织生长良好,骨皮质覆盖,剖面骨组织长入钽颗粒之间,新生成骨组织与原有骨组织延续如图1D。

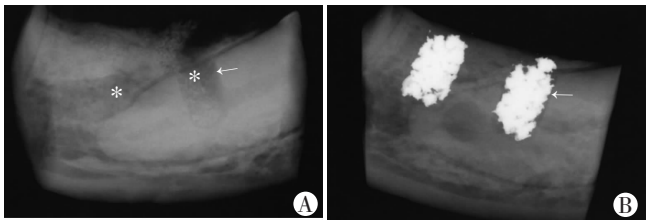


图1 Bio-oss 骨粉与多孔钽颗粒植入缺损与修复后3个月标本剖面图像

2.2 X 线片检查结果

3个月 X 线片表现示,实验组和对照组各骨缺损区得到不同程度的修复;对照组新骨质周围界限模糊,缺损区骨皮质不延续,新骨密度低于正常骨(图2A);实验组缺损区内可见骨组织长入,骨皮质与正常骨皮质连续,新骨质与多孔钽颗粒表面接触紧密,并长入多孔钽颗粒之间(图2B);X 线片量化分析以 Lane-

Sandhu X 线评分标准评估新骨生成和塑形[对照组为(8.98 ±0.09),n =9;实验组为(9.54 ±0.10),n =9;P <0.01,图 3],统计学分析显示实验组与对照组相比差异有统计学意义(P <0.01)。实验结果证实多孔钽颗粒组对颌骨骨缺损修复效果优于 Bio-oss 骨粉组。

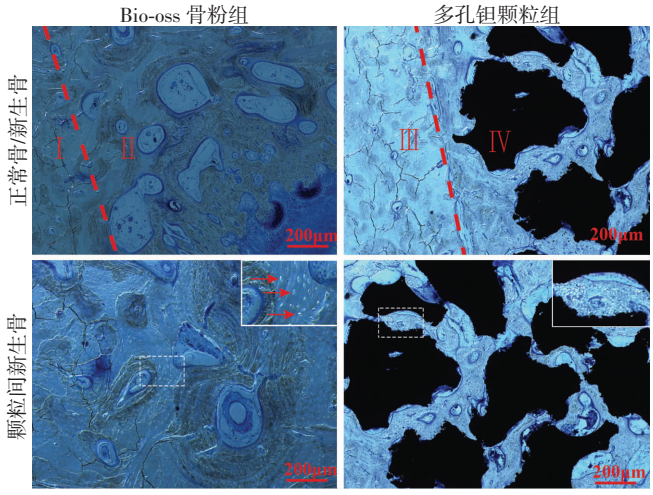


A:Bio-oss 骨粉修复后;B:多孔钽颗粒修复缺损后;*:缺损区新骨,箭头:骨缺损边界

图 2 骨缺损标本 X 线片表现

2.3 甲苯胺蓝染色观察

对照组:缺损区新生骨组织成熟度低于周围正常骨,缺损区边缘新骨与周围骨组织延续如图 3A;缺损区内可见大小不等的 Bio-oss 骨粉颗粒,骨粉颗粒逐渐降解,骨粉颗粒周围被骨组织包绕,骨粉颗粒与新生骨组织之间可见蓝色环状类骨质区,骨粉颗粒之间新生骨组织内可见大量软骨陷窝样结构如图 3C 箭头所示,新骨质量不如多孔钽颗粒组。实验组:多孔钽颗粒呈黑色,缺损区新生骨组织成熟度低于周围正常骨,缺损区边缘新骨与周围骨组织延续并向多孔钽颗粒之间延伸(图 3B);缺损区内多孔钽颗粒被大量新生骨组织和少量胶原纤维包绕,新生骨组织相互交联呈网状如图 3D 所示;多孔钽颗粒表面可见成骨细胞,并在其表面成骨;多孔钽颗粒之间空隙内可见成骨组织,且与骨组织紧密结合。



Ⅰ:Bio-oss 骨粉组骨缺损区外正常骨组织;Ⅱ:Bio-oss 骨粉组骨缺损区;Ⅲ:多孔钽颗粒组骨缺损区外正常骨组织;Ⅳ:多孔钽颗粒组骨缺损区;箭头:颗粒之间骨陷窝样结构

图 3 充填骨缺损后 3 个月硬组织切磨片光镜观察 (甲苯胺蓝)

3 讨论

颌骨缺损是口腔颌面外科、种植牙科、修复科较常见的病损。颌骨缺损给患者造成不同程度咀嚼困难,语言障碍和影响美观。临床颌骨缺损常用的修复方式:机体自行愈合,自体骨移植,骨粉充填,金属及其合金的应用。有研究指出新鲜拔牙创具有很强自行愈合的潜能,发现颌骨骨缺损在 3 mm 以下可自行修复,缺损大于 4 mm 时即需要骨移植材料促进成骨[5]。自体骨组织内含有成骨细胞,同时还有各种生长因子,可以刺激骨髓间充质干细胞分化为成骨细胞,加速分化的成骨细胞具有成骨作用[6];新鲜的自体骨移植是理想的骨移植材料,有学者指出自体骨移植的效果是所有移植材料中的"金标准"[7];但是自体骨移植后仍有被机体吸收的风险,吸收后维持缺损区骨的高度和宽度较困难难[8];同时较大的骨缺损需求的自体骨量较多,自体骨常来至颌骨的颏部,髂骨或胫骨等部位,需要开辟第二术区,创伤感染机会等并发症增多以及增加手术时间和手术费用等[1]。异源性骨粉最常见的是 Bio-oss 骨粉和 TCP 骨粉,Bio-oss 骨粉是经特殊加工工艺,从牛的松质骨中将所有的有机成分彻底去除,而骨小梁和内部空隙被保存下来,与人体骨组织成分相似,是一种具有骨引导作用的多孔的骨移植材料,具有良好的生物相容性[9],配合 Bio-gide 胶原膜使用是临床常用颌骨缺损修复方法[10]。文献[11]报道 Bio-oss 骨粉植入后会被机体缓慢吸收,本实验结果发现 Bio-oss 骨粉颗粒大小不等,骨粉被机体逐渐吸收所致。

理想的植入金属材料应具有耐腐蚀性,与骨组织相适应弹性模量,生物相容性好等特点,有利于骨锚固。Zardiackas 等[12]研究发现多孔钽的弹性模量介于松质骨 0.1 ~1.5 GPa 和皮质骨 12.0 ~18.0 GPa 之间,低于钛及其合金,其接近人骨组织的弹性模量,确保了植入后产生更少的应力阻挡效应,有利于骨组织的重塑。骨髓间充质干细胞贴壁金属钽表面优于钛[13];成骨细胞适于在多孔钽表面附着,生长及分化,表现出良好的生物相容性[14]。多孔钽颗粒三维结构,颗粒上有空隙,有利于骨髓间充质干细胞和成骨细胞在其表面附着。多孔钽的空隙结构与骨组织相识,为骨组织的长入提供了良好的支架[15]。本实验结果显示,多孔钽颗粒组和 Bio-oss 骨粉组骨缺损均得到不同程度修复,无炎症反应;以 Lane-Sandhu X 线评分标准评估新骨生成和塑形,多孔钽颗粒组为(9.54 ±0.10),Bio-oss 骨粉组为(8.98 ±0.09),2 组之间存在统计学差异(P <0.05),说明多孔钽颗粒具有良好的

促进新骨生成及塑形。有研究指出,多孔钽作为髌骨假体时,髌韧带覆盖其表面,纤维组织具有向多孔钽材料内部生长的特性,且3个月时纤维组织占据了多孔钽空隙约50%的空间[16];本实验发现多孔钽颗粒组新生大量骨组织环抱多孔钽,相互铰链呈网状,纤维组织较少,可能是由于缺损表面覆盖Bio-gide胶原膜,隔绝了牙龈中纤维向多孔钽颗粒之间生长,或观测时间点偏晚,纤维组织已矿化成骨。成骨细胞附着于孔钽颗粒表面并在其表面成骨,多孔钽颗粒之间空隙内可见成骨组织长入,表现出良好的骨传导性,这与Liu等[17]对多孔钽治疗股骨头坏死中应用研究结果一致。而3个月时,Bio-oss骨粉组骨缺损内新生骨组织可见大量骨陷窝样结构和纤维组织,这与王华等[18]的研究结果相同即Bio-oss修复缺损3个月后新生骨成熟度不高。结果表明多孔钽颗粒具有良好的诱导成骨能力,新骨由缺损周围向内缺损中心生长和成骨细胞附着于多孔钽表面成骨,其修复颌骨骨缺损效果优于Bio-oss骨粉的效果。

国内外关于自体骨,Bio-oss骨粉,磷酸三钙修复颌骨骨缺损的文献报道较多,但是尚未见多孔钽金属颗粒修复颌骨缺损的报道,本实验通过观察证实多孔钽颗粒对颌骨骨缺损的修复取得较好的效果,为临床修复材料的研发提供相应的实验依据。将多孔钽颗粒应用于修复颌骨骨缺损具有以下特点:①具有骨传导作用,颗粒之间的间隙有利于骨组织向内生长。②具有骨诱导和塑形作用,骨缺损修复后3个月,骨缺损内部新骨骨组织成熟度优于Bio-oss骨粉组,能更好的修复下颌骨骨缺损。本实验的不足:样本量少、缺空白对照组和未分时间点检测各时间段成骨情况。在接下来的研究中继续研究其阶段性成骨情况、远期疗效和力学性能,使其能更好地应用于临床。

参考文献:

[1] Kay S A, Wisner-Lynch L, Marxer M, *et al*. Guided bone regeneration: integration of resorbable membrane and a bone graft material[J]. Pract Periodontics Aesthet Dent, 1997, 9(2): 185-194.

[2] Reach J S Jr, Dickey I D, Zobitx M E, *et al*. Direct tendon attachment and healing to porous tantalum: an experimental animal study [J]. J Bone Joint Surg Am, 2007, 89(5): 1000-1009.

[3] Matsuno H, Yokoyama A, Watari F, *et al*. Biocompatibility and osteogenesis of refractory metal implants, titanium, hafnium, niobium, tantalum and rhenium[J]. Biomaterals, 2001, 22(11): 1253-1262.

[4] 郭敏, 郑玉峰. 多孔钽材料制备及其骨科植入物临床应用现状[J]. 中国骨科临床与基础研究杂志, 2013, 5(1): 47-54.

[5] 韩倩, 张志宏, 刘红红, 等. 犬下颌骨骨缺损自我修复能力的电镜观察[J]. 安徽医药, 2012, 16(3): 326-328.

[6] Donadieu E, Hamdi W, Deveze A, *et al*. Improved cryosections and specific immunohistochemical methods for detecting hypoxia in mouse and rat cochleas[J]. Acta Histochem, 2007, 109(3): 177-184.

[7] Babbush C A, Hahn J A, Krauser J T, *et al*. Dental implants The Art and Science [M]. Philadelphia: Saunders W B Co, 2001: 59-82.

[8] Zins J E, Moreira-Gonzalez A, Parikh A, *et al*. Biomechanical and histologic evaluation of the Norian craniofacial repair system and Norian Craniofacial Repair System Fast Set Putty in the long-term reconstruction of full-thickness defects in a sheep model[J]. Plast Reconstr Surg, 2008, 121(5): 271e-282e.

[9] Piattelli M, Favero G A, Scarano A, *et al*. Bone reactions to anorganic bovine bone (Bio-Oss) used in sinus augmentation procedures: a histologic long-term report of 20 cases in humans[J]. Int J Oral Maxillofac Implants, 1999, 14(6): 835-840.

[10] 邱立新, 林野, 王兴, 等. Bio-Oss骨代用品同引导骨再生膜联合应用效果的观察[J]. 中华口腔医学杂志, 2002, 37(6): 412-414.

[11] Araujo M G, Carmagnola D, Berglundh T, *et al*. Orthodontic movement in bone defects augmented with Bio-Oss. An experimental study in dogs[J]. J Clin Periodontol, 2001, 28(1): 73-80.

[12] Zardiackas L D, Parsell D E, Dillon L D, *et al*. Structure, metallurgy, and mechanical properties of a porous tantalum foam [J]. J Biomed Mater Res, 2001, 58(2): 180-187.

[13] Stiehler M, Lind M, Mygind T, *et al*. Morphology, proliferation, and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells cultured on titanium, tantalum, and chromium surfaces [J]. J Biomed Mater Res, 2008, 86(2): 448-458.

[14] 林凤飞, 郑明, 刘伯龄, 等. 多孔钽金属与成骨细胞生物相容性的实验研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2014, 22(12): 1119-1123.

[15] Dabrowski B, Swieszkowski W, Godlinski D, *et al*. Highly porous titanium scaffolds for orthopaedic applications[J]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2010, 95(1): 53-61.

[16] Itala A, Heijink A, Leerapun T, *et al*. Successful canine patellar tendon reattachment to porous tantalum [J]. Clin Orthop Relat Res, 2007, 463: 202-207.

[17] Liu G, Wang J, Yang S, *et al*. Effect of a porous tantalum rod on early and intermediate stages of necrosis of the femoral head [J]. Biomed Mater, 2010, 5(6): 065003.

[18] 王华, 邓春富, 张翀, 等. 胶原膜联合Bio-Oss骨粉成骨效果的实验研究[J]. 中国医科大学学报, 2010, 39(4): 283-285.

(**收稿**:2015-02-28;**修回**:2015-03-19)

(编辑 张 维)