基础研究 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001383

n-HA/PA66抗生素缓释系统在兔股骨缺损模型中药物释放规律的初步研究

蒋恩东，倪卫东
（重庆医科大学附属第一医院骨科，重庆 400016）

【摘 要】**目的**：研究分别载万古霉素、头孢曲松的纳米羟基磷灰石/聚酰胺 66（nano-hydroxyapatite/polyamide 66，n-HA/PA66）抗生素缓释系统在兔股骨缺损模型中的药物释放规律，从而探讨其抗感染效能。**方法**：将 192 只新西兰大白兔股骨缺损模型随机分为 2 个大组（头孢曲松组和万古霉素组），每组 96 只。每个大组分 4 个亚组，每组 24 只，每个亚组有 8 个时间节点，各时间节点 3 只。按万古霉素与 n-HA/PA66 分别为 5%、4%、3%和 2%的质量比制备 An、Bn、Cn、Dn 4 种不同含药量的载万古霉素 n-HA/PA66 薄片；头孢曲松组同上述方法制备为 A*n、B*n、C*n、D*n 薄片。将 2 大组的 4 种薄片分别对应植入动物模型。于术后第 1、3、5、7、10、14、21、28 天 8 个时间点从每个亚组中随机选取 3 只大白兔，麻醉处死后采取骨缺损部位松质骨及骨干皮质骨，将其骨标本粉碎处理后进行抑菌实验，测量抑菌环直径，用标准曲线计算出各标本抗生素药物浓度。**结果**：万古霉素与对应抑菌环直径的对数呈相关关系，相关系数 r=0.998，P=0.000。头孢曲松与对应抑菌环直径的对数呈相关关系，相关系数 r=0.997，P=0.001。从结果可见载药缓释系统中 2 种抗生素释放缓慢，随着载体缓释系统中抗生素质量比的增加，抗生素释放的浓度越高（5%载体缓释系统>4%载体缓释系统>3%载体缓释系统>2%载体缓释系统），均 P<0.05，差异有统计学意义。4 种不同质量比的载体缓释系统均在第 1 天释放的抗生素含量最多，达到总体浓度的 50%以上，以后逐渐下降。5%、4%、3%万古霉素在体内释放持久，直到第 28 天均有万古霉素存在，且骨折局部的万古霉素浓度均大于最小抑菌浓度（minimum inhibitory concentration，MIC），有较好的抑菌作用。而 2%的万古霉素在第 10 天后其局部浓度低于 MIC。5%、4%、3%、2%头孢曲松在体内释放持久，直到第 28 天均有万古霉素存在，2%的头孢曲松在第 28 天刚好略高于 MIC，骨折局部骨质长入正常。**结论**：通过本方法制备的载 3%万古霉素的 n-HA/PA66、载 2%头孢曲松的 n-HA/PA66 缓释系统能有效预防和治疗骨折感染，为临床治疗提供理论参考。

【关键词】缓释系统；股骨缺损；万古霉素；头孢曲松
【中图分类号】R453.2；R683.42 【文献标志码】A 【收稿日期】2016-05-027

Preliminary study on drug release of n-HA/PA66 antibiotic release system in the rabbit model of femoral defect

Jiang Endong, Ni Weidong
(*Department of Orthopedics, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University*)

【Abstract】***Objective***: To investigate the suitable dose of drug delivery system that contained vancomycin, ceftriaxone nano-hydroxyapatite/polyamide 66(n-HA/PA66) for repair the rabbits femoral defects model. ***Methods***: Totally 192 New Zealand white rabbits were randomly divided into two femoral defects model groups(ceftriaxone and vancomycin). Each group had 96 rabbits and was divided into 4 subgroups, each subgroup had 8 time nodes and each time node had 3 rabbits. Vancomycin ratio n-HA/PA66 was 5%, 4%, 3%, 2% respectively, preparing in four different concentrations of vancomycin n-HA/PA66 sheet: An, Bn, Cn, Dn sheet; ceftriaxone was prepared as described above with the sheet A*n, B*n, C*n and D*n flakes. The eight sheets were implanted in the two animal models Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ subgroup. Postoperative 1 d, 3 d, 5 d, 7 d, 10 d, 14 d, 21 d, 28 d 8 time points were randomly selected for general observation and radiography. Defects part of the backbone of cancellous bone and cortical bone specimens were took and crushed; zone diameters were measured with a standard curve to calculate the concentration of each specimen antibiotics. ***Results***: The results showed that the speed of release of two antibiotics from the drug delivery system was slow, the more high antibiotic content(5% carrier delivery system>4% carrier delivery system>

作者介绍：蒋恩东，Email：328067197@qq.com，研究方向：创伤感染。
通信作者：倪卫东，Email：niweidong18@163.com。
资金项目：重庆市卫生局医学科学技术研究基金资助项目（编号：2008-2-38）。
优先出版：http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20170630.1057.056.html（2017-06-30）

3% carrier delivery system>2% carrier delivery system), the higher the concentration of the antibiotic release. The content of antibiotic in different four vector delivery systems was increased on the first day, reaching more than 50% of the total concentration and then gradually declined. *In vivo*, release of vancomycin lasted 5%, 4%, 3% until the 28 days, and the presence of vancomycin in defects concentrations were greater than the MIC, and local concentrations of 2% vancomycin was below the MIC on 10 d. *In vivo*, 5%, 4%, 3%, 2% ceftriaxone release lasted until the 28 days and had the presence of vancomycin. Meanwhile, 2% ceftriaxone on the 28 d just reached MIC, which has normal bone growth in partial defects and no fibrous capsule, and the fibrous capsule were seen in the other of different concentrations. ***Conclusion***: Nano-hydroxyapatite/polyamide 66(n-HA/PA66) contained 3% vancomycin and n-HA/PA66 contained 2% ceftriaxone sustained release system can effectively prevent and treat the defects of infection, providing a theoretical reference for clinical treatment.

【Key words】release system; femoral defect; vancomycin; ceftriaxone

1970 年，Buchholz 等最早提出了将聚甲基丙烯酸甲酯[poly(methyl methacrylate)，PMMA]作为载体加入抗生素，用于预防和治疗全髋关节成形术中可能伴随的深度感染[1]。随着研究的深入，骨水泥/硅溶胶，硫酸钙/羟基磷灰石(hydroxyapatite，HAP)/聚乳酸(polylactide，PLA)/聚羟乙酸(polyglycolic acid，PGA)和重组抗菌骨等抗生素载体材料相继问世[2]。

HAP 是动物与人体骨骼的主要无机成分，具有良好的生物活性和生物相容性，临床已经广泛应用；聚酰胺 66(polyamide 66，PA66)是一种有机质高分子材料，具有较好的韧性。由 HAP 和 PA66 成功研制的纳米羟基磷灰石/聚酰胺 66(nano-hydroxyapatite/polyamide 66，n-HA/PA66)复合材料具有高强度和高韧性等特点[3]，从 2005 年起已经广泛应用于临床骨科修复骨缺损的患者。尽管已经在临床有一定的应用，但是 n-HA/PA66 的临床应用效果尚不清楚。骨与软组织创伤后感染，是骨科严重的并发症之一，即使全身应用大剂量抗生素，在病灶局部组织中亦难以达到有效的药物浓度。而局部应用的抗生素则可达到有效的药物浓度，大大减少全身用药带来的副作用。在骨折围手术期感染过程中，尤其是近年来在抗生素的选择作用下金黄色葡萄球菌耐药菌株增加，耐甲氧西林葡萄球菌感染比例大大增加[4]，但仍对万古霉素敏感，临床可予以治疗[5]。对不产超广谱 β-内酰胺酶的大肠埃希菌和铜绿假单胞菌可用头孢曲松治疗[6]。另外，抗生素局部浓度影响成骨细胞活性，妨碍骨的愈合，尤其在高浓度药物影响骨折愈合[7]。因此，以某种针对致病菌的抗生素与其合适的载药量复合一种理想的缓释系统载体，最终达到既治愈感染，又不严重影响骨折愈合的目的势在必行。本实验采用万古霉素、头孢曲松与 n-HA/PA66 制备成的抗生素缓释系统，植入新西兰大白兔股骨骨折模型中，进而探讨缓释系统合适的载药量。

1 材料和方法

1.1 实验材料及试剂

清洁级新西兰大白兔(由重庆医科大学动物实验中心提供)192 只，兔龄 5 个月，体质量 2.4~2.8 kg，均为雄性。外科手术器械、无菌敷料、3%戊巴比妥钠、生理盐水、注射用盐酸万古霉素、头孢曲松钠、大肠埃希菌(ATCC25922)、输液管、负压吸引装置、医用酒精、金黄色葡萄球菌标准菌株(ATCC25923)、M-H 培养基、90 mm 培养皿、游标卡尺。

1.2 实验方法

1.2.1 抗生素标准曲线绘制 绘制万古霉素对金黄色葡萄球菌的浓度-抑菌环直径标准曲线：①标准抗生素液的配置：用 pH=7.4 的磷酸盐缓冲液将万古霉素稀释成系列标准液，浓度为 2 000、1 600、1 200、800、500、200、100、50、20、10 mg/L。②K-B 法抑菌实验：取 90 mm 培养皿，各加入 2×10^4 mg/L M-H 培养基 20 mL，25 ℃下凝固。每个培养皿中贴入 3 片直径为 6 mm 的无菌滤纸，每片滤纸加抗生素标准液 10 mL，每个浓度 3 个样品，分别置于 3 个培养皿中，37 ℃培养 24 h，游标卡尺测量各浓度抑菌环直径，取平均值。绘制标准曲线：用 SPSS 19.0 统计软件包拟合抗生素浓度与抑菌环直径的半对数标准曲线。

同上述方法绘制头孢曲松对大肠埃希菌的浓度-抑菌环直径标准曲线。

1.2.2 n-HA/PA66 载药复合材料的制备 医用 n-HA/PA66 复合骨填充材料(纳艾康，四川国纳有限公司)规格为 5.0 cm × 0.5 cm × 0.5 cm，裁剪成 1.0 cm × 0.5 cm × 0.2 cm规

格，取 96 块该材料，钴-60 辐照消毒。分别按 5%、4%、3%和 2%的质量比（配好的抗生素注射液与 n-HA/PA66 材料的质量之比）向 n-HA/PA66 中加入万古霉素的注射剂，依次记为 An、Bn、Cn、Dn，每种质量比分别制取 24 块。真空吸附后冻干，制得载药 n-HA/PA66 人工骨。同上述方法制得载头孢曲松的 n-HA/PA66 薄片 96 块，分别记为 A^*_n、B^*_n、C^*_n、D^*_n。

1.2.3 动物模型的制备 将 192 只新西兰大白兔随机分为 2 个大组，每组再分为实验Ⅰ组、实验Ⅱ组、实验Ⅲ组、实验Ⅳ组共 4 组，每组 24 只动物。用 3%戊巴比妥钠溶液麻醉 192 只新西兰大白兔成功后，于新西兰大白兔右股骨髁外侧剪毛，新洁而灭酊消毒铺巾，无菌条件下在右股骨髁上外侧做一长约 2 cm 纵行切口，切开肌肉及骨膜，暴露右股骨外上髁，以电钻在髁上钻孔开窗，大小约 1.0 cm × 0.5 cm，刮除部分骨质和骨髓，充分止血后，将含药量不同的 n-HA/PA66 薄片分别植入骨窗内，再连续缝合皮肤伤口。所有新西兰大白兔骨折模型单笼饲养，按标准统一喂食。分别于术后第 1、3、5、7、10、14、21、28 天 8 个时间点从每小组中随机选取 3 只大白兔，每只均进行以下相应指标的检测。

扫描电镜观察：将制备的 n-HA/PA66 薄片随机取点于电镜下观察。

大体观察：观察伤口基本愈合情况，局部软组织是否有红、肿、热、痛，有无异常渗出物，有无脓肿、窦道等。

将模型动物麻醉后处死，取出右侧股骨，以离植入物两端 0.5 cm 处为中心点，在中心点两侧共 0.5 cm 宽度内，采取松质骨及骨干皮质骨标本，粉碎骨标本，称骨粉 50 mg，加入含 2 mL（pH=7.4）磷酸盐缓冲液于试管中，振荡 2 h，3 500 r/min 离心 15 min，吸取上清液，于-30 ℃冰箱保存，统一行抑菌试验，游标卡尺测量抑菌环直径，用标准曲线计算出每小组各时间节点 3 个标本抗生素药物浓度并取其平均值。

1.3 统计学分析

数据分析采用统计软件 SPSS 19.0，计量资料采用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示。多组正态定量资料比较采用重复测量方差分析，组间两两比较采用 LSD-t 法；两变量关系采用简单相关分析。检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 抗生素浓度与对应抑菌环直径的对数标准曲线

根据实验结果绘制的万古霉素标准曲线（图 1）方程：y=3.727 9x+6.579 1，相关系数 r=0.998，P=0.000。

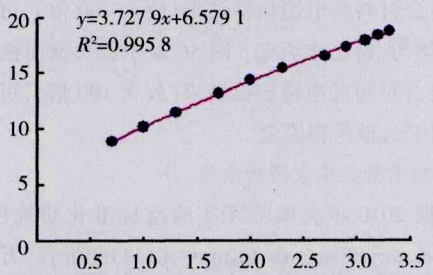


图 1 万古霉素与对应抑菌环直径的对数标准曲线

Fig.1 Standard curve of corresponding logarithmic between vancomycin and zone diameters

根据实验结果绘制的头孢曲松标准曲线（图 2）方程：y=6.571 2x+5.655 3，相关系数 r=0.997，P=0.000。

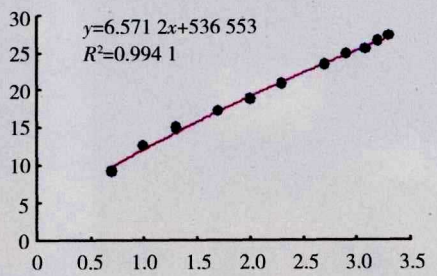
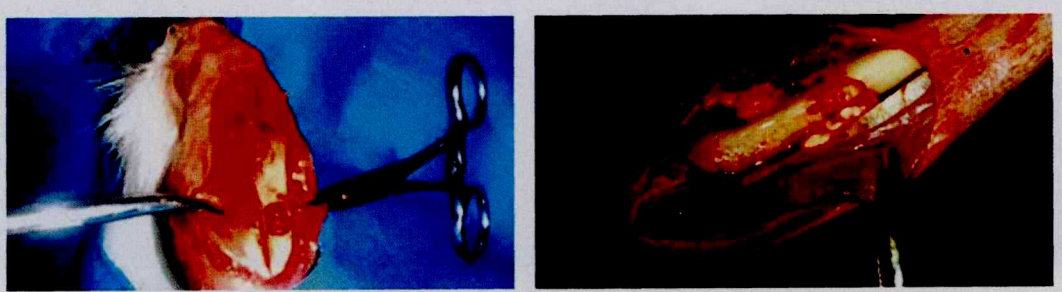


图 2 头孢曲松与对应抑菌环直径的对数标准曲线

Fig.2 Standard curve of corresponding logarithmic between ceftriaxone and zone diameters

2.2 模型动物数量情况

所有模型动物在实验时间点内均无死亡，万古霉素组 96 只新西兰大白兔均进行结果统计分析，其中有 1 只伤口发生感染，其他的未感染；头孢曲松组均未发生感染（图3）。



A.骨折缺损模型　　B. 载抗生素的 n-HA/PA66 复合材料置入骨缺损模型中

图 3 载药复合材料置入骨缺损模型中

Fig.3 Drug-loaded composite materials into bone defect model

2.3　n-HA/PA66 载药复合材料及电镜扫描结果

图 4 为 n-HA/PA66 载药复合材料，皮尺量其规格为 1.0 cm × 0.5 cm × 0.2 cm，该复合材料未载药时平均质量为（30 ± 5）mg。

图 5A 显示不载药物的 n-HA/PA66 复合材料的电镜扫描结果（放大 100 倍）；图 5B 显示载万古霉素的 n-HA/PA66 复合材料的电镜扫描结果（放大 100 倍），可见材料表面空隙均匀，被药物填充。图 5C 显示载头孢曲松的 n-HA/PA66 复合材料的电镜扫描结果（放大 100 倍），可见材料表面空隙均匀，被药物填充。

2.4　模型动物抗生素药物浓度

根据 2010 年美国临床实验室标准化研究所（Clinical and Laboratory Standards Institute，CLSI）的推荐，万古霉素对金黄色葡萄球菌的 MIC 为 2 μg/mL。重复测量方差分析结果显示：不同浓度、不同时间以及浓度和时间的交互作用均有统计学意义（$F_{浓度}$=516.658，$P_{浓度}$=0.000；$F_{时间}$=12 415.378，$P_{时间}$=0.000；$F_{浓度\times时间}$=346.183，$P_{浓度\times时间}$=0.000），万古霉素在体内释放持久，注射后第 1、3、5、7、10、14、21、28 天，随着载体缓释系统中抗生素含量增加，抗生素释放的浓度增高（5%载体缓释系统>4%载体缓释系统>3%载体缓释系统>2%载体缓释系统，均 P<0.05，差异有统计学意义）。4 种不同质量比的载体缓释系统均在第 1 天释放的抗生素含量最多，达到总含量的 50%以上，以后逐渐下降趋势。均有 5%、4%、3%质量比的 3 种载体缓释系统中在第 28 天骨折局部的万古霉素浓度均大于 MIC，而 2%的载体缓释系统在第 10 天的时候，局部抗生素浓度低于 MIC，4%、5%的载体缓释系统骨折局部出现纤维囊，见表 1。

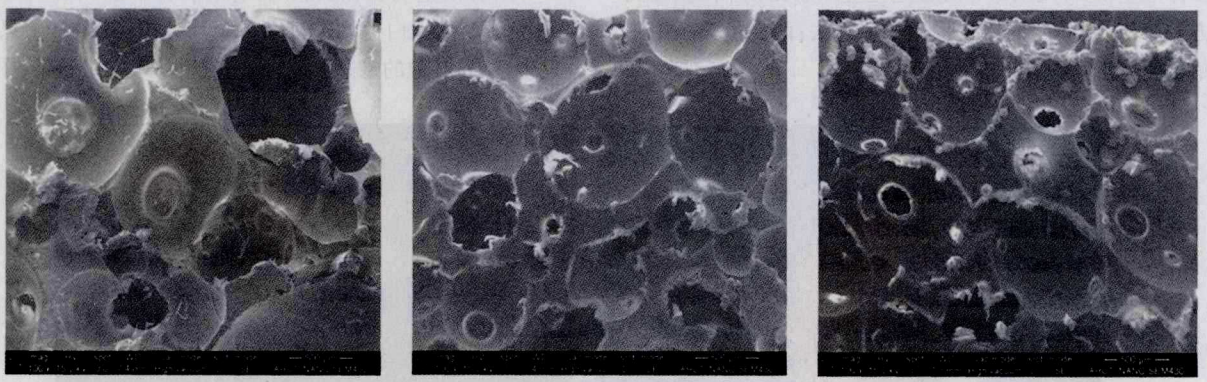
根据 2010 年 CLSI 的推荐，头孢曲松对大肠埃希菌的 MIC 为 0.12~0.25 μg/mL。重复测量方差分析结果显示：不同浓度、不同时间以及浓度和时间的交互作用均有统计学意义（$F_{浓度}$=1 632.345，$P_{浓度}$=0.000；$F_{时间}$=9 667.003，$P_{时间}$=0.000；$F_{浓度\times时间}$=283.158，$P_{浓度\times时间}$=0.000）。注射后第 1、3、5、7、14、21



A. 长 1.0 cm　　B. 宽 0.5 cm　　C. 厚度 0.2 cm

图 4　载药复合材料及其规格

Fig.4　Drug-loaded composite materials and specifications



A. 不载药物的 n-HA/PA66 复合材料　　B. 载万古霉素的 n-HA/PA66 复合材料　　C. 载头孢曲松的 n-HA/PA66 复合材料

图 5　n-HA/PA66 载药复合材料的电镜扫描结果

Fig.5　Microscopy image of n-HA / PA66 drug composites with the scanning transmission electron

表 1 载万古霉素 n-HA/PA66 4 个实验组骨药浓度测定值（μg/mL）

Tab.1 Concentrations of the vancomycin loaded n-HA/PA66 in four experimental groups（μg/mL）

浓度	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 10 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天
5%	1300.06 ± 33.38^{abc}	445.06 ± 8.59^{abc}	300.98 ± 9.04^{abc}	186.79 ± 1.22^{abc}	74.65 ± 1.66^{abc}	45.36 ± 1.14^{abc}	20.46 ± 0.81^{abc}	8.67 ± 0.10^{abc}
4%	982.08 ± 23.23^{ab}	325.56 ± 8.16^{ab}	250.45 ± 6.23^{ab}	140.35 ± 5.74^{ab}	52.12 ± 0.60^{ab}	36.45 ± 0.51^{ab}	18.56 ± 0.44^{ab}	6.25 ± 0.141^{ab}
3%	820.12 ± 4.23^{a}	250.45 ± 8.52^{a}	150.36 ± 6.64^{a}	83.26 ± 0.84^{a}	25.46 ± 0.63^{a}	18.56 ± 0.71^{a}	12.45 ± 0.32^{a}	4.32 ± 0.08^{a}
2%	480.24 ± 8.31	196.45 ± 8.05	80.46 ± 2.86	62.45 ± 2.22	8.32 ± 0.17	1.83 ± 0.10	0.84 ± 0.04	0.49 ± 0.02
LSD-t 值	400.384	171.160	549.549	1 133.492	3 404.471	2 851.787	727.949	1 199.555
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注：整体比较：$F_{浓度}$ = 516.658，$P_{浓度}$ = 0.000；$F_{时间}$ =1 2415.378，$P_{时间}$ =0.000；$F_{浓度\times时间}$=346.183，$P_{浓度\times时间}$=0.000；a：与 2%的的载体缓释系统比较，P<0.01；b：与 3%的的载体缓释系统比较，P<0.01；c：与 4%的的载体缓释系统比较，P<0.01

表 2 载头孢曲松 n-HA/PA66 4 个实验组骨药浓度测定值（μg/mL）

Tab.2 Concentration of the ceftriaxone loaded n-HA/PA66 in four experimental groups（μg/mL）

浓度	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 10 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天
5%	1 220.06 ± 34.21^{abc}	545.06 ± 12.12^{abc}	390.98 ± 4.45^{abc}	200.79 ± 2.16^{abc}	94.65 ± 3.25^{abc}	65.36 ± 2.18^{abc}	30.46 ± 0.56^{abc}	16.67 ± 0.12^{abc}
4%	902.08 ± 17.58^{ab}	395.56 ± 19.25^{ab}	290.45 ± 9.58^{ab}	180.35 ± 1.12^{ab}	72.12 ± 3.65^{ab}	56.45 ± 1.03^{ab}	28.56 ± 0.33^{ab}	16.25 ± 0.15^{ab}
3%	800.12 ± 23.25^{a}	350.45 ± 16.15^{a}	250.36 ± 8.12^{a}	103.26 ± 0.59^{a}	5.46 ± 0.96^{a}	38.56 ± 0.46^{a}	22.45 ± 0.21^{a}	0.32 ± 0.08^{a}
2%	450.24 ± 3.34	200.45 ± 2.12	70.46 ± 1.15	52.45 ± 1.19	30.80 ± 0.10	16.07 ± 0.12	9.80 ± 0.05	0.28 ± 0.01
LSD-t 值	343.599	390.084	2 412.270	1 522.757	296.083	949.117	1 891.404	187.047
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注：整体比较：$F_{浓度}$ = 1 632.345，$P_{浓度}$ = 0.000；$F_{时间}$ =9 667.003，$P_{时间}$ =0.000；$F_{浓度\times时间}$=283.158，$P_{浓度\times时间}$=0.000；a：与 2%的的载体缓释系统比较，P<0.01；b：与 3%的的载体缓释系统比较，P<0.01；c：与 4%的的载体缓释系统比较，P<0.01

天，随着载体缓释系统中抗生素含量增加，抗生素释放的浓度增高（5%载体缓释系统>4%载体缓释系统>3%载体缓释系统>2%载体缓释系统，均 P<0.05，差异有统计学意义），注射后第 10 天，5%载体缓释系统抗生素释放的浓度高于其他组，4%和 3%载体缓释系统抗生素释放的浓度高于 2%组，第 28 天，5%和 4%载体缓释系统抗生素释放的浓度高于 3%和 2%组，3%载体缓释系统抗生素释放的浓度高于 2%组，均 P<0.05，差异有统计学意义。4 种不同质量比的载体缓释系统均在第 1 天释放的抗生素含量最多，达到总含量的 50%后逐渐下降。头孢曲松在体内释放持久，直到第 28 天均有头孢曲松存在，2%的载体缓释系统在第 28 天的时候，局部抗生素浓度略大于 MIC 上限，而其他 3 种载体缓释系统骨折局部均出现纤维囊，但 3%的载体缓释系统骨折局部未发现，见表2。

综上所述，载万古霉素 n-HA/PA66 的合适浓度为 3%；载头孢曲松 n-HA/PA66 的合适浓度为 2%。

3 讨 论

本实验分别按 5%、4%、3%和 2%的质量比向 n-HA/PA66 中加入万古霉素、头孢曲松的注射剂，分别制成 4 组不同比例混合的药物缓释系统，并用于修复新西兰大白兔股骨骨折。本研究结果显示局部给药的万古霉素、头孢曲松峰值浓度出现在植入薄片后第 1 天，达到总体浓度的 50%以上，以后逐渐下降，药物释放缓慢，到第 28 天都还存在残留的万古霉素和头孢曲松。随着载体缓释系统中抗生素含量的增加（5%载体缓释系统>4%载体缓释系统>3%载体缓释系统>2%载体缓释系统），抗生素释放的浓度增高。以上表明，局部给药可获得较高的局部药物浓度，并可维持较长时间。

本实验得出的结果也与 Kokubo 等[8]得到的结论相似，他们将载有万古霉素的磷酸钙骨水泥块植入兔的骨髓腔，结果发现 3 周后骨髓腔中的万古霉素浓度仍然大于 2 μg/mL。由此说明该种纳米载体缓释系统有缓释药物的功能，可能主要与药物大量地充填于纳米材料的孔隙状结构中，在动物体内能缓慢扩散入组织中，达到长期治疗的药物价值[9]。2%的万古霉素载体缓释系统在第 10 天的时候，局部抗生素浓度低于 MIC，不能达到控制感染的目的；而

2%的头孢曲松载体缓释系统在第 28 天的时候，局部抗生素浓度略高于 MIC 上限，能控制感染。由此说明不同质量比的载体缓释系统，药物释放的速度不同，可能影响因素包括载体缓释系统中含有的抗生素含量、载体的孔隙大小、载体的光滑度和粗糙度以及载体的表面积等。虽然，高浓度的载体缓释系统能延长抗生素的释放时间，但是，高浓度的抗生素含量也延缓了骨质的长入，并形成了细小的纤维囊[10-12]，不利于骨折的愈合，并且由于长期处于一个高浓度的抗生素环境下，后期也容易使抗生素在低浓度时形成耐药性。因此，通过本实验数据表明载万古霉素（n-HA/PA66）的合适浓度为 3%；载头孢曲松 n-HA/PA66 的合适浓度为 2%，能有效应用于临床预防和治疗骨折感染，同时副作用较低，为后续进一步实验提供参考。

骨与软组织创伤后感染，是骨科严重的并发症之一[5]。由于感染导致内固定失败，或者感染后形成具有高抗药性的细菌生物膜，即使全身应用大剂量抗生素，在病灶局部组织中亦难以达到有效的抗生素浓度，导致截肢甚至死亡等[13]。临床上常规处理包括：清除坏死组织、骨固定、消灭死腔、软组织覆盖和全身应用抗生素[14]。全身应用抗生素时，由于骨病变处血运较差和周围瘢痕组织多等特点，局部药物浓度很难达到有效的药物治疗浓度，从而使局部感染灶经久不愈。因此，为了提高局部药物浓度，局部用药的给药方式相继应用于临床治疗，其优势在于在病灶局部快速形成明显高于全身的药物浓度，且不受血运状况的影响，大大减少全身用药带来的副作用。而局部给药的方法也在不断发展更新中，包括局部肢体渗透法、局部注射法、闭合灌注法等[15]。之前的研究表明在骨折围手术期感染致病菌中，凝固酶阴性的金黄色葡萄球菌、耐甲氧西林葡萄球菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌所致感染几乎占骨折部位感染的 72.9%[16]。因此，根据感染病原菌选择特定的抗生素在骨折部位局部给药，往往能达到较好的治疗效果。然而，局部高浓度的抗生素也会影响成骨细胞的活性，妨碍骨的愈合，尤其在局部用药时的高浓度范围更加影响骨折的愈合[17]。因此，为达到临床治疗目的，选择一种合适的缓释系统载体，既能治愈感染，又不严重影响骨折愈合势在必行。

近年来，一种新型局部给药方式——抗生素缓释系统逐渐发展起来，其本质是一系列高性能的无机材料和有机高分子材料，即把各种生物相容性、力学性能好的材料作为载体与抗生素混合，利用材料在体内可降解或抗生素溶于体液的特点，逐渐释放出抗生素，从而使感染局部长期存在一定浓度的抗生素，达到预防治疗感染的目的[18]。理想的药物缓释系统植骨载体应具备以下条件：①良好的生物相容性和一定的机械强度；②可降解性和缓释药物的功能，有适宜的降解速度，伴随降解而平稳持续的释放药物；③具有骨诱导性和骨传导性，利于细胞粘附及增殖，促进组织形成[19]。·1970 年 Buchholz 等最早提出把抗生素加入 PMMA 的概念，用于预防和治疗全髋关节成形术中可能伴随的深度感染[1]。陆续出现的抗生素载体材料有骨水泥、硅溶胶、硫酸钙、HAP、PLA、PGA 和重组抗菌骨等[20]。其中，HAP 是动物与人体骨骼的主要无机成分，具有良好的生物活性和生物相容性，临床已经广泛应用。近年来，国内研究和文献报告较多的是将 n-HA 与Ⅰ型胶原复合、生物衍生材料与Ⅰ型胶原复合，n-HA 与有机质高分子 PA66 复合等，上述复合材料均已在实验研究阶段取得了满意的实验结果。

本科室和四川大学纳米生物材料研究中心合作研制成功的 n-HA/PA66，是在“十五”国家科技攻关计划和国家“863”计划资助下，具有我国自主知识产权和国际领先水平的新型纳米生物活性骨修复替代材料。它将 n-HA 的优良生物相容性、刚性、尺寸稳定性和 PA66 的韧性完整地结合起来，其结构和力学性能较纯HA 更接近于自然骨，是一种具有良好生物相容性、生物安全性、生物活性和骨传导能力的高强度高韧性复合材料[3,21]。该修复体具有一定生物活性，临床应用前景广阔。承后开发的纳米磷灰石/聚酰胺 6 和纳米磷灰石/聚酰胺 66 生物活性复合材料系列修复体[22]。目前该材料已于 2005 年获国家 FDA 准字号生产许可证，并已于 2006 年上市用于骨科临床修复骨缺损[国食药监械（准）字 2005 第 3460204 号]。本研究观察持续时间短，仅术后 1 个月，且模型数量较少，其用于临床患者长期的有效性和安全性有待于进一步探讨和观察。

参 考 文 献

[1] Nuding S,Frasch T,Schaller M,et al. Synergistic effects of antimicrobial peptides and antibiotics against Clostridium difficile[J]. Antimicrob Agents Chemother,2014,58(10):5719-5725.

[2] 于学忠,陈 华,张伯勋. 治疗骨感染的植入型局部抗生素缓释系统研究进展[J]. 军医进修学院学报,2007,28(1):73-75.

[3] John A,Hong L,Ikada Y,et al. A trial to prepare biodegradable collagen-hydroxyapatite composites for bone repair[J]. J Biomater Sci Polym Ed,2001,12(6):689-705.

[4] 李 晨,董云英,马岳珠,等. 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的感染现状[J].中国康复理论与实践,2006,12(3):261-262.

[5] Karns M,Dailey SK,Archdeacon MT. Treatment of calcaneal fracture with severe soft tissue injury and osteomyelitis:a case report[J]. J Foot Ankle Surg,2015,54(5):973-977.

[6] 王化芬,王晓军,于 茜,等. 骨科感染病原菌谱与抗菌谱 3 年报告[J]. 中国矫形外科杂志,2007,15(4):313-315.

[7] Perry AC,Prpa B,Rouse MS,et al. Levofloxaein and trovafloxacin inhibition of experimental fracture-healing[J]. Clin Orthop Relat Res,2003(414):95-100.

[8] Kokubo T,Kushitani H,Sakka S,et al. Solutions able to reproduce in vivo surface structure changes in bioactive glass-ceramic A-W[J]. J Biomed Mater Res,1990,24(6):721-734.

[9] Ackerson RM,Shum LC,Berry AR,et al. In vivo model to measure bone repair efficacy of nanoparticle-based drug delivery[J]. Orthopedics,2014,37(8):e707-711.

[10] Gu H,Xiong Z,Yin X,et al. Bone regeneration in a rabbit ulna defect model:use of allogeneic adipose-derivedstem cells with low immunogenicity[J]. Cell Tissue Res,2014,358(2):453-464.

[11] Berninger MT,Wexel G,Rummeny EJ,et al. Treatment of osteochondral defects in the rabbit's knee joint by implantation of allogeneic mesenchymal stem cells in fibrin clots[J]. J Vis Exp,2013,21(75):e4423.

[12] Liao HT,Chen CT. Osteogenic potential:Comparison between bone marrow and adipose-derived mesenchymal stem cells[J]. World J Stem Cells,2014,6(3):288-295.

[13] Harris LG,RICHARDS RG. Staphylococci and implant surfaces:a review[J]. Injury,2006,37(S2):3-l4.

[14] Kalinka J,Hachmeister M,Geraci J,et al. Staphylococcus aureus isolates from chronic osteomyelitis are characterized by high host cell invasion and intracellular adaptation,but still induce inflammation[J]. Int J Med Microbiol,2014,304(8):1038-1049.

[15] 杨 莽,张彩霞,陈德敏. 羟磷灰石骨水泥/去甲万古霉素缓释系统的体内释药试验[J]. 上海第二医科大学学报,2005,25(2):158-160.

[16] 王化芬,王晓军,于 茜,等. 骨科感染病原菌谱与抗菌谱 3 年报告[J].中国矫形外科杂志,2007,15(4):313-315.

[17] Fan H,Zeng X,Wang X,et al. Efficacy of prevascularization for segmental bone defect repair using β-tricalcium phosphate scaffold in rhesus monkey[J]. Biomaterials,2014,35(26):7407-7415.

[18] Mouriño V,Cattalini JP,Li W,et al. Tissue engineering using ceramics and polymers[M]. 2nd Edition.Textiles:Woodhead Publishing,2014:648-675.

[19] Zhu M,Zhu Y,Ni B,et al. Mesoporous silica nanoparticles/hydroxyapatite composite coated implants to locally inhibit osteoclastic activity[J]. ACS Appl Mater Interfaces,2014,6(8):5456-5466.

[20] Tayton E,Purcell M,Smith JQ,et al. The scale-up of a tissue engineered porous hydroxyapatite polymer composite scaffold for use in bone repair:an ovine femoral condyle defect study[J]. J Biomed Mater Res A,2015,103(4):1346-1356.

[21] dos Santos LA,de Oliveira LC,da Silva Rigo EC,et al. Fiber reinforced calcium phosphate cement[J]. Artif Organs,2000,24(3):212-216.

[22] 魏 杰. 纳米类骨磷灰石晶体及其与聚酰胺复合骨修复材料研究[D]. 成都:四川大学,2004.

（责任编辑：冉明会）

《重庆医科大学学报》
在线投稿网址：cyxb.alljournals.ac.cn