

骨组织工程支架材料用于脊柱后外侧融合术研究进展

梁博 徐建广

摘要 自体骨移植是脊柱融合术的金标准,然而将自体骨作为移植物存在不少缺陷及并发症,所以骨组织工程支架材料逐渐成为研究热点。早期研究主要集中于钙磷陶瓷和生物活性玻璃等无机材料、聚乳酸等人工合成高分子材料及胶原等生物材料,这些材料均有一定的成骨及融合效果。研究发现,使用特定工艺将有机材料与无机材料结合制成的复合材料各方面属性均更接近正常骨组织,配合基质干细胞和各类生长因子,能达到或超过自体骨移植所获得的融合效果。该文就近年来骨组织工程支架材料用于脊柱后外侧融合术研究进展作一综述。

关键词 骨组织工程;骨替代物;支架材料;脊柱融合

DOI: 10.3969/j.issn.1673-7083.2017.05.005

脊柱融合术是临床上脊柱外科应用最广泛的术式,无论是脊柱融合还是骨缺损修复重建,自体骨移植一直被作为金标准。自体髂骨是自体骨最常见的来源,但其数量有限,融合效果有时差强人意,且取自体髂骨还会导致手术时间延长,增加患者痛苦^[1]。因此,异体骨一度成为组织工程研究热点。但异体骨移植可能发生疾病传播、免疫排斥等并发症,限制了其广泛应用^[2]。

组织工程技术的发展为寻找自体骨及异体骨替代物带来了希望。目前常见的支架材料有无机材料[如羟基磷灰石(HA)、 β -磷酸三钙(β -TCP)、生物活性玻璃]、合成高分子材料[如聚乳酸(PLA)及其异构体]以及生物材料或天然高分子材料(如胶原、透明质酸、壳聚糖、藻酸盐)^[3]。理想的支架材料应具备良好的生物相容性和可降解性,能提供可靠的力学支持,同时不会对组织或细胞产生毒性,且最好具有与正常骨组织相似的多孔结构,以便促进细胞黏附、增殖与分化,从而利于新生骨和血管长入^[4]。在联合干细胞与支架材料的基础上添加具有生物活性的生长因子将会进一步提高其骨生成能力,目前研究最多且获得最广泛认可的生长因子是骨形态发生蛋白(BMP)^[5],而甲状旁腺素(PTH)作为与骨代谢高度相关的生物活性因子,将其应用于组织工程材料也正引起越来越多的关注^[6]。目前绝大多数组织工程材料的动物实验建立在颅骨缺损模型上,与之相比,脊柱后外侧植骨融合术对材料的成骨和力学

性能提出了更高的要求,因为横突部位缺乏血供,且正常活动会使椎体间产生位移,就算是作为金标准的自体骨移植也时有融合失败的发生。在多种材料展示了其修复颅骨及长骨缺损的出众能力后,学者们将目光聚焦于能够大幅提高脊柱融合成功率的组织工程材料。

1 无机材料

用于骨组织工程支架材料的无机材料众多,但由于脊柱的力学承重能力以及脊柱后外侧植骨时局部较为严苛的成骨条件等,限制了许多材料的应用。目前被尝试应用于脊柱后外侧融合术的无机材料主要有 HA、 β -TCP、生物活性玻璃等。

1.1 HA 与 β -TCP

目前已有多种人工合成的钙磷陶瓷被尝试作为骨替代物应用于脊柱融合术中,这类材料主要在局部发挥骨传导作用,为新骨生成创造条件,但许多钙磷陶瓷会在短短数周内被吸收降解,从而导致融合失败^[7]。在众多钙磷陶瓷中,HA、 β -TCP 得到了最广泛的研究及应用。 β -TCP 在植入后经数月才会被吸收,而 HA 吸收降解较 β -TCP 更慢,如此便能在局部提供持久的力学支撑与骨传导作用^[8]。HA 和 β -TCP 的多孔结构及空隙大小可根据需要调整,从而可以使材料模仿正常骨质框架结构,以达到最佳的成骨效果^[9]。在早期单独应用钙磷陶瓷的基础上,有学者尝试在钙磷陶瓷中添加其他成分来进一步改善其成骨能力,如联合钙磷陶瓷与胶原物质的复合材料可提高钙磷陶瓷的力学性能,且更有利于成骨相关细胞及生长因子在局部黏附、增殖与分

化^[10]。随着组织工程技术的发展,以钙磷陶瓷为基础的复合材料联合经成骨诱导分化后的基质干细胞及各种生长因子,已能达到与自体骨移植相当甚至更佳的成骨效果^[11]。Bansal等^[12]将HA与 β -TCP的混合物及骨髓提取物一并植入30例脊柱后外侧融合术患者脊柱的一侧,另一侧取自体髂骨植骨作为对照组,分别在第3、6、12个月进行CT检查,结果显示该方法融合率与自体髂骨植骨无明显差异。

1.2 生物活性玻璃

生物活性玻璃是以多种氧化物为基础制成的具有生物活性的陶瓷,能刺激新骨生成,并在植入部位能与骨及软组织形成牢固链接,且随着新骨生成,其能逐渐溶解,是组织工程领域热门材料之一。经典生物活性玻璃由 $45\text{SiO}_2-24.5\text{Na}_2\text{O}-24.5\text{CaO}-6\text{P}_2\text{O}_5$ 组成,被命名为45S5生物活性玻璃。将45S5生物活性玻璃浸泡于组织液中一段时间后,其表面会形成羟基磷灰石沉淀层,表明它具有一定的成骨能力^[13]。45S5生物活性玻璃于1985年被首次应用于临床后,不少学者对其进行了进一步的加工与改进,在其基础上诞生了多种具有不同力学及生物属性的生物活性玻璃^[14]。生物活性玻璃通常由熔化法或溶胶凝胶法制作而成,用熔化法可以制出各种尺寸和形状的生物活性玻璃,且这些生物活性玻璃可具有与正常骨组织相似的多孔结构,以利于新生组织长入^[15]。尽管已有许多研究将生物活性玻璃作为组织工程材料治疗骨缺损,但将其应用于脊柱后外侧融合术的研究非常有限。Ilharreborde等^[16]对比生物活性玻璃与自体骨在88例脊柱后外侧融合患者中的融合效果,经4年随访发现,生物活性玻璃组获得了比自体骨更高的融合率,且感染发生率更低。但也有研究^[17]表明,虽然生物活性玻璃的多孔结构及易被吸收的特性使其具备优秀的成骨能力,但吸收过快导致的力学支撑能力不足会导致融合失败。近年来介孔材料的出现为生物活性玻璃的发展带来了新的契机,介孔生物活性玻璃(MBG)具有更为出色的生物活性,浸泡在组织液中短短几小时内就可形成磷灰石沉淀层,且孔径为2~50 nm的多孔结构能使其成为搭载和释放药物或生长因子的理想支架材料^[18]。但由于正常状态下大多数细胞直径为10~200 μm ,远大于MBG的孔径,因此MBG限制了细胞及组织的长入。为解决这一问题,同时具有大孔及介孔的分层材料吸引了众多学者的关注。Midha等^[19]证实了这种分层材料既能高效

地促进周围成骨细胞增殖、分化及磷灰石沉淀形成,又可使新生骨及血管长入。

具有分层结构的MBG在治疗颅骨及长骨缺损模型中展示了令人兴奋的成骨效果^[18,20],但目前尚未出现将其应用于脊柱后外侧融合术的报道。

2 合成高分子材料

除无机材料之外,组织工程领域的另一研究热点是合成高分子材料,主要有PLA、聚羟基乙酸(PGA)以及PLA-PGA共聚物(PLGA)。此外,对聚己内脂(PCL)等也有较为广泛的研究^[21]。

PLA是以乳酸为单体化学合成的多聚物,具有亲脂性及生物降解性,通常由微生物发酵生成,淀粉和蔗糖是其合成的来源。PLA有3种异构体,即聚右旋乳酸(PDLA)、聚左旋乳酸(PLLA)及聚消旋乳酸(PDLLA)^[22]。与PLA类似的亲脂性高分子材料还有PGA、PLGA、PCL等,它们都能降解为无毒物质,具有良好的生物相容性,并拥有不同的降解速率,从数周到数月、数年不等,以适用于不同的组织工程用途。但高分子材料的韧性和坚固程度往往较差,这限制了其单独应用于脊柱后外侧植骨融合术的可能性。高分子材料可塑性强,可以联合无机材料制成兼具坚固性及一定变形能力的复合材料用于脊柱融合术^[23]。Tanaka等^[24]将HA与PDLLA联合制成含有70%HA颗粒及30%PDLLA的复合材料,该复合材料拥有70%的孔隙率,孔径从40~480 μm 不等,平均170 μm ,并具备无机材料的坚固性,力学实验表明其可承受 (4.1 ± 0.4) Mpa的压力,且由于PDLLA的加入,使其在术中具有一定可塑性,可通过修剪或加热来调整其形态,从而适应局部空间结构;该复合材料配合骨髓一起用于新西兰兔脊柱后外侧融合术,12周后取得了与自体骨相当的成骨融合效果。

3 生物材料

生物材料是骨组织工程支架材料的另一大类。生物材料可进一步分为碳水化合物来源的材料(如透明质酸、壳聚糖及纤维素等)和蛋白质来源的材料(主要是胶原)^[25]。生物材料限于其力学特性以及难以制成稳定的多孔结构并未被广泛应用,目前应用于脊柱后外侧融合术的生物材料只有胶原。

胶原在软组织和结缔组织中广泛分布,是最丰富的动物蛋白,占人体蛋白质总量的1/3,占整个皮肤组织干质量的3/4^[26]。胶原分子一般由3个多肽链组成,这些肽链平行排列,各自卷曲形成聚脯氨酸

II型(PP II)左手螺旋结构,之后再相互缠绕,彼此间由氢键连接,形成稳定的右旋三螺旋结构。在动物体内,胶原三螺旋即原胶原组织,其在骨和基底膜中形成胶原纤维及网状结构。胶原具有可生物降解和无毒特性,外源性胶原较其他天然聚合物更具生物相容性,且仅有弱抗原性。它可通过交联或自聚形成具有高拉伸强度和稳定性的纤维,这些纤维可用于合成具有支架作用的组织工程材料^[27]。

Han等^[28]将胶原联合具有胶原结合结构域的重组人骨形态发生蛋白(CBD-rhBMP)制成支架植于SD大鼠L_{4~5}横突之间进行后外侧植骨融合术,结果术后第8周有新骨形成,术后第16周植入处横突间形成牢固融合。

4 复合材料

如上所述,无机材料和有机材料各有其优缺点,随着组织工程技术的发展,应用单一材料所取得的成骨效果已难以满足要求。为改善这种状况,近年来许多学者将目光聚集于复合材料研究上。复合材料即将两种或更多种材料按一定比例及制作工艺合成兼具两种材料优点并能产生全新特性的新材料。仿生支架材料应运而生,成为组织工程材料的研究新热点^[29]。

正常骨组织是由有机胶原和无机HA结晶按一定比例及结构组成,这样的结构既能提供可靠的力学强度,又能为成骨相关细胞增殖、分化等提供必要的外环境^[30]。单一无机材料或有机材料显然不能构造出最理想的支架材料,兼具有机成分与无机成分的混合仿生支架材料则能尽可能地模仿正常骨组织,从而提高成骨及融合能力。

Long等^[31]应用悬液浸泡法制作胶原与生物活性玻璃结合的复合材料(CO/BG),该材料孔隙率为 $81\% \pm 4.6\%$,孔径为 $40 \sim 200 \mu\text{m}$,能承受 $(5.8 \pm 1.6) \text{ Mpa}$ 的压缩力,拥有 $(0.35 \pm 0.01) \text{ Gpa}$ 的弹性模量,与松质骨十分相似,相比胶原吸水性 889% ,该复合材料将吸水性降至 52% ,有效克服了胶原易膨胀和稳定性差的不足,同时还解决了单一生物活性玻璃易碎的特性,体外实验显示该复合材料能明显促进基质干细胞黏附与增殖,但将其应用于脊柱后外侧融合术的实际效果还有待于更进一步的动物实验来加以研究。Hu等^[32]将PCL与 β -TCP复合材料联合基质干细胞和BMP应用于脊柱后外侧融合术,该复合材料孔隙率为 75% ,孔径为 $500 \mu\text{m}$,术后6周大鼠L_{4~5}横突间植入材料发生融

合。Tang等^[33]将HA、胶原和PLA复合材料联合基质干细胞应用于脊柱后外侧融合术,于新西兰兔L_{5~6}椎体后外侧植入支架,术后10周获得了满意的融合效果。

各种类型的复合材料不胜枚举,总体而言,这些复合材料都是通过有机材料与无机材料的有效结合,使材料获得尽可能更接近正常骨组织的特性,众多研究也证实了这种复合材料能有效提高成骨效率。

5 结语

目前对骨替代或骨再生的组织工程学材料已有十分广泛的研究,但能够应用于脊柱后外侧融合术并提供可靠融合效果的骨组织工程材料,尚需进一步探索与研究。无机材料虽能提供可靠的力学支持,但其脆性较大,可塑性低,降解性能差,有时还会产生力学遮蔽效应,且为成骨相关细胞提供利于增殖、分化外环境的能力相对较弱。生物材料或天然高分子材料具有来源广、易合成等特点,胶原作为骨基质的重要组成部分,用其合成的材料能明显促进相关细胞的黏附、增殖与分化,但它不能提供可靠的力学支撑,且易膨胀变形,这些缺陷限制了其单独应用的能力。人工合成高分子材料同样缺乏足够的力学支撑能力,且其降解产物呈酸性,不利于骨细胞生长。

由此,综合多种类型材料特性的复合仿生材料应是今后骨组织工程支架材料研究的重点方向。目前学者们正致力于使骨组织工程支架材料的特性尽可能地接近正常骨组织,从而具备可靠力学支撑能力,为成骨相关细胞黏附、增殖、分化提供有利的外环境,并具备促进新生骨及血管组织长入的理想孔隙率及孔径。在无机材料中,MBG分层材料具备优秀的成骨能力,可作为复合材料中无机材料部分的重点研究对象。

骨组织工程成骨能力主要受三大要素的影响,即支架、基质干细胞及生长因子^[34]。在提高支架材料成骨能力的研究中,除了改进支架材料本身,探索更易获取干细胞的途径和提高其成骨分化能力的方法,同样也能提高成骨效率。综上所述,研制出更接近正常骨组织的复合材料并配合更高效的基质干细胞及生长因子将会为研制理想的脊柱后外侧融合组织工程材料带来新的希望。

参考文献

[1] Fischer CR, Cassilly R, Cantor W, et al. A systematic

- review of comparative studies on bone graft alternatives for common spine fusion procedures[J]. *Eur Spine J*, 2013, 22(6):1423-1435.
- [2] Ma D, Ren L, Chen F, et al. Reconstruction of rabbit critical-size calvarial defects using autologous bone marrow stromal cell sheets[J]. *Ann Plast Surg*, 2010, 65(2):259-265.
- [3] Crowley C, Wong JM, Fisher DM, et al. A systematic review on preclinical and clinical studies on the use of scaffolds for bone repair in skeletal defects[J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2013, 8(3):243-252.
- [4] Henkel J, Woodruff MA, Epari DR, et al. Bone regeneration based on tissue engineering conceptions: a 21st century perspective[J]. *Bone Res*, 2013, 1(3):216-248.
- [5] Kadam A, Millhouse PW, Kepler CK, et al. Bone substitutes and expanders in spine surgery: a review of their fusion efficacies[J]. *Int J Spine Surg*, 2016, 10:33.
- [6] Dang M, Koh AJ, Jin X, et al. Local pulsatile pth delivery regenerates bone defects via enhanced bone remodeling in a cell-free scaffold[J]. *Biomaterials*, 2017, 114:1-9.
- [7] Buser Z, Brodke DS, Youssef JA, et al. Synthetic bone graft versus autograft or allograft for spinal fusion: a systematic review[J]. *J Neurosurg Spine*, 2016, 25(4):509-516.
- [8] Shamsul BS, Tan KK, Chen HC, et al. Posterolateral spinal fusion with osteogenesis induced BMSC seeded TCP/HA in a sheep model[J]. *Tissue Cell*, 2014, 46(2):152-158.
- [9] Motomiya M, Ito M, Takahata M, et al. Effect of hydroxyapatite porous characteristics on healing outcomes in rabbit posterolateral spinal fusion model[J]. *Eur Spine J*, 2007, 16(12):2215-2224.
- [10] Kunakornsawat S, Kirinpanu A, Piyaskulkaew C, et al. A comparative study of radiographic results using HEALOS collagen-hydroxyapatite sponge with bone marrow aspiration versus local bone graft in the same patients undergoing posterolateral lumbar fusion[J]. *J Med Assoc Thai*, 2013, 96(8):929-935.
- [11] Brødano GB, Giavaresi G, Lolli F, et al. Hydroxyapatite-based biomaterials vs. autologous bone graft in spinal fusion: an in vivo animal study[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2014, [Epubahead of print].
- [12] Bansal S, Chauhan V, Sharma S, et al. Evaluation of hydroxyapatite and beta-tricalcium phosphate mixed with bone marrow aspirate as a bone graft substitute for posterolateral spinal fusion[J]. *Indian J Orthop*, 2009, 43(3):234-239.
- [13] Liu X, Rahaman MN, Hilmas GE, et al. Mechanical properties of bioactive glass (13-93) scaffolds fabricated by robotic deposition for structural bone repair[J]. *Acta Biomater*, 2013, 9(6):7025-7034.
- [14] Hench LL, Jones JR. Bioactive glasses: frontiers and challenges[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2015, 3:194.
- [15] Baino F, Vitale-Brovarone C. Three-dimensional glass-derived scaffolds for bone tissue engineering: current trends and forecasts for the future[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2011, 97(4):514-535.
- [16] Ilharreborde B, Morel E, Fitoussi F, et al. Bioactive glass as a bone substitute for spinal fusion in adolescent idiopathic scoliosis: a comparative study with iliac crest autograft[J]. *J Pediatr Orthop*, 2008, 28(3):347-351.
- [17] Lee JH, Ryu HS, Seo JH, et al. Negative effect of rapidly resorbing properties of bioactive glass-ceramics as bone graft substitute in a rabbit lumbar fusion model[J]. *Clin Orthop Surg*, 2014, 6(1):87-95.
- [18] Zhao S, Zhang J, Zhu M, et al. Three-dimensional printed strontium-containing mesoporous bioactive glass scaffolds for repairing rat critical-sized calvarial defects[J]. *Acta Biomater*, 2015, 12:270-280.
- [19] Midha S, van den Bergh W, Kim TB, et al. Bioactive glass foam scaffolds are remodelled by osteoclasts and support the formation of mineralized matrix and vascular networks in vitro[J]. *Adv Healthc Mater*, 2013, 2(3):490-499.
- [20] Tang W, Lin D, Yu Y, et al. Bioinspired trimodal macro/micro/nano-porous scaffolds loading rhBMP-2 for complete regeneration of critical size bone defect[J]. *Acta Biomater*, 2016, 32:309-323.
- [21] Pang X, Zhuang X, Tang Z, et al. Polylactic acid (PLA): research, development and industrialization[J]. *Biotechnol J*, 2010, 5(11):1125-1136.
- [22] Eiteman MA, Ramalingam S. Microbial production of lactic acid[J]. *Biotechnol Lett*, 2015, 37(5):955-972.
- [23] Tayton E, Purcell M, Aarvold A, et al. A comparison of polymer and polymer-hydroxyapatite composite tissue engineered scaffolds for use in bone regeneration. An in vitro and in vivo study[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2014, 102(8):2613-2624.
- [24] Tanaka K, Takemoto M, Fujibayashi S, et al. A bioactive and bioresorbable porous cubic composite scaffold loaded with bone marrow aspirate: a potential alternative to autogenous bone grafting[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2011, 36(6):441-447.
- [25] Garg T, Singh O, Arora S, et al. Scaffold: a novel carrier for cell and drug delivery[J]. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 2012, 29(1):1-63.
- [26] Chattopadhyay S, Raines RT. Review collagen-based biomaterials for wound healing[J]. *Biopolymers*, 2014, 101(8):821-833.
- [27] Shoulders MD, Raines RT. Collagen structure and stability[J]. *Annu Rev Biochem*, 2009, 78:929-958.
- [28] Han X, Zhang W, Gu J, et al. Accelerated postero-lateral spinal fusion by collagen scaffolds modified with engineered collagen-binding human bone morphogenetic protein-2 in rats[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5):e98480.

[29] Wang Y, Shang S, Li C. Aligned biomimetic scaffolds as a new tendency in tissue engineering[J]. Curr Stem Cell Res Ther, 2016, 11(1):3-18.

[30] Newcomb CJ, Bitton R, Velichko YS, et al. The role of nanoscale architecture in supramolecular templating of biomimetic hydroxyapatite mineralization[J]. Small, 2012, 8(14):2195-2202, 2194.

[31] Long T, Yang J, Shi SS, et al. Fabrication of three-dimensional porous scaffold based on collagen fiber and bioglass for bone tissue engineering[J]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2015, 103(7):1455-1464.

[32] Hu T, Abbah SA, Toh SY, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells assembled with low-dose BMP-2 in a three-dimensional hybrid construct enhances posterolateral spinal fusion in syngeneic rats[J]. Spine J, 2015, 15(12): 2552-2563.

[33] Tang ZB, Cao JK, Wen N, et al. Posterolateral spinal fusion with nano-hydroxyapatite-collagen/PLA composite and autologous adipose-derived mesenchymal stem cells in a rabbit model[J]. J Tissue Eng Regen Med, 2012, 6(4):325-336.

[34] Ren X, Tu V, Bischoff D, et al. Nanoparticulate mineralized collagen scaffolds induce in vivo bone regeneration independent of progenitor cell loading or exogenous growth factor stimulation[J]. Biomaterials, 2016, 89:67-78.

(收稿: 2017-03-22; 修回: 2017-06-08)
(本文编辑: 王妮)

《国际骨科学杂志》投稿、邮购

《国际骨科学杂志》创刊于 1964 年,是国家级医学学术类期刊,入编中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)、中国学术期刊统计源期刊、中国期刊全文数据库收录期刊等,由国家卫计委、上海市卫计委主管,上海市医学科学技术情报研究所主办。

《国际骨科学杂志》以广大骨科及相关临床医师、教学人员和研究人员为读者对象,贯彻理论与实践、普及与提高相结合的办刊宗旨,主要介绍国内外骨科领域的临床和基础研究的新理论、新方法、新技术和新成果。栏目设置包括综述、论著、专题报告、学术争鸣、专利介绍、病例报告、新技术新概念、国外来访者报告及信息报道等。目前本刊的 5 年影响因子为 1.052(《中国期刊引证研究报告·2014 年版》),居“国际医学系列期刊”前茅。欢迎广大作者投送稿件! 来稿若符合录用标准,均可在 6 个月内发表。

投稿通道: 官方网站 <http://gjgkx.paperopen.com> 注册后投稿或发送电子邮件至 intjorthop@163.com。同时需将打印稿 2 份、作者单位推荐(介绍)信、作者简介(出生年月、学位、技术职称、研究方向、联系手机号码)等邮寄至上海市建国西路 602 号《国际骨科学杂志》编辑部,邮编 200031。来稿需标明是否为省部级以上基金资助项目并注明编号,以便优先审稿。

本刊历史悠久、内容翔实、可读性强,深受广大骨外科及相关学科临床医生、教研人员的欢迎和好评。本刊为双月刊,大 16 开本,每单月 25 日出版。邮局发行代号:4-268(定价:12.00 元,全年 72.00 元)。编辑部全年接受个人邮购,免收邮费。

投稿、邮购联系电话:021-33262069(直线)