

[文章编号] 1671-587 (2006) 04-0571-04

## 人工骨质材料的生物学特性

陈丙年<sup>1</sup>, 李智<sup>1</sup>, 王宏芳<sup>2</sup>, 李娟<sup>2\*</sup>

(1 厦门大学医院外科, 福建 厦门 361005; 2 吉林大学公共卫生学院卫生化学教研室, 吉林 长春 130021)

[摘要] 目的: 制备表征多金属氧酸盐(POMs)纳米粒子掺杂的羟基磷灰石骨替代材料, 并对其性能进行探讨。方法: 用小鼠和白化兔, 通过急性毒性实验、热原实验、皮内实验进行生物相容性检验。结果: 材料为棒状, 平均粒径为20 nm, 长度为100 nm左右。尺寸与人骨更接近, 且POMs纳米粒子掺杂的壳聚糖/羟基磷灰石(CS/nano-HAP)复合材料无热原性, 无毒, 受试材料浸提液无刺激性。结论: 此多金属氧酸盐纳米粒子掺杂的羟基磷灰石骨替代材料具有良好的生物相容性。这种材料与骨组织结合是一种骨性结合, 具有较高的界面强度。

[关键词] 羟基磷灰石类; 骨代用品; 多金属氧酸盐; 生物相容性材料

[中图分类号] R73-361 [文献标识码] A

## Biological characteristics of artificial bones

CHENG Bing-nian<sup>1</sup>, LI Zhi<sup>1</sup>, WANG Hong-fang<sup>2</sup>, LI Juan<sup>2\*</sup>

(1. Department of Surgery, Hospital of Xiamen University, Xiamen 361005, China;

2. Department of Hygienic Chemistry, School of Public Health, Jilin University, Changchun 130021, China)

**Abstract:** **Objective** To synthesize a novel polymer POMs-CS/nano-HAP and study its biocompatibility and safety.

**Methods** The biocompatibility was evaluated through the experiments including acute systemic toxicity test, pyrogen, intracutaneous test. **Results** The crystals of POMs-CS/nano-HAP were equal on sizes, which average diameter was 20 nm and length was 100 nm. By comparing, the polymer were better than those reported, which were closer to the natural bone. The material had no toxicity, no irritation to skin. **Conclusion** The POMs-CS/nano-HAP artificial bone possesses excellent biocompatibility.

**Key words:** hydroxy apatites; bone substitutes; polyoxometalates; biocompatible materials

随着现代生物医学技术与材料科学的发展, 具有生物相容性、力学生物相容性以及生物活性的骨替代材料被广泛用于人体硬组织与器官的修复中。在硬组织修复中, 骨替代材料的研究和制备已成为当今世界生物材料科学研究中前沿课题。目前, 壳聚糖(chitosan, CS)/羟基磷灰石(hydroxyapatite, HAP)体系已有报道。CS为天然可降解的高分子, 资源丰富, 适合做缓释和控释载体, 且具有良好的生物相容性、抗溃疡和杀菌作用, 对受损生物体能诱导产生特殊细胞, 促进伤口

和骨伤的愈合, 对人体组织无毒、无刺激。HAP是人体骨骼的主要无机成分, 含有人体组织所必需的钙和磷元素, 植入体内后, 在体液的作用下, 钙和磷会游离到材料表面, 与人体进行物质交换, 参与人体新陈代谢, 并被机体组织吸收, 与人体骨骼组织形成化学键, 生长出新组织。但具有良好的生物相容性, 又具有抗病毒活性的骨替代材料还未见文献报道。本研究针对以往骨替代材料不具有抗病毒活性的特性进行探讨, 旨在寻找一种既有生物相容性及活性, 同时具有抗病毒活性的多金属氧酸盐

[收稿日期] 2005-12-21

[基金项目] 国家自然科学基金资助课题(20171010)

[作者简介] 陈丙年(1966-), 男, 内蒙古通辽市人, 副主任医师, 主要从事骨病、骨伤和骨替代材料研究。

\* 通讯作者(Tel: 0431-5619419; E-mail: li\_juan@jlu.edu.cn)

纳米粒子掺杂的 HAP 骨替代材料。

## 1 材料与方 法

1.1 试剂与仪器 乙醇、碳酸钙、磷酸氢钙均为分析纯。X-射线衍射(XRD)测定使用日本理学 D/max-RB 型 X-射线衍射仪,红外光谱测定使用 MagnaFT-IR560 傅里叶变换红外光谱仪, KBr 压片,透射电镜(TEM),使用 Hitachi-H7500 型电子显微镜,加速电压 80 kV,铜网(孔径为 01067 nm),万能材料试验机(深圳)。

1.2 多金属氧酸盐纳米粒子掺杂的 HAP 骨替代材料的制备 采用水热合成的方法,将 CS、CaCO<sub>3</sub>、CaHPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O、Ca<sub>3</sub>P<sub>2</sub>W<sub>18</sub>O<sub>62</sub>、H<sub>2</sub>O 按摩尔比 1:1:3:1:500 的比例混合放入 30 mL 反应釜中,通氮气 10 min,排尽反应釜中氧气。按照 5℃·min<sup>-1</sup> 进行程序升温至 200℃,恒温 72 h,按照 5℃·min<sup>-1</sup> 进行程序降温至 25℃。过滤并用蒸馏水洗涤,在 80℃真空干燥。

1.3 力学性能检测实验 复合材料的力学性能测试均在微机控制万能材料试验机上进行。所有试样在测试前,均在 30℃烘箱中烘 8 h,以消除水分对试样力学性能的影响。

1.4 急性毒性实验 将上述制备的 POMs 掺杂的 CS/nano-HAP 复合材料高温、高压(1 215℃、2 h)按重量比用生理盐水配成 4% 及 20% 的混悬液。30 只健康昆明小鼠,雌雄各半(由吉林大学实验动物中心提供),体重(18±2) mg,随机分 3 组,每组 10 只。两实验组动物采用一次性灌胃这 2 种浓度的混悬液 0.5 mL,相当于 1 000 和 5 000 mg·kg<sup>-1</sup>;对照组给予生理盐水。分别于给药前及给药后测量动物体重变化并观察各种反应。

1.5 热原实验 将 POMs 掺杂的 CS/nano-HAP 复合材料按重量比用生理盐水配制成 5% 的混悬液,高温高压消毒,并在 121℃下保温 1 h,然后将混悬液在 2 500 r·min<sup>-1</sup> 下离心,取上清液于 38℃温箱中保存备用。取白化兔(体重 2.0~2.4 kg)3 只,按中国药典 2000 年版第二部附录 XZD 热原检查法,每隔 30 min 用精密度为 0.1℃肛温计测兔体温 3 次,取其平均值为正常体温。测定正常体温后 15 min 内,自耳缘静脉缓注材料提取液 10 mL·kg<sup>-1</sup>,每隔 15 min 测肛温 1 次,共 3 次,以 3 次体温最高 1 次减去正常体温,即为该兔体温的升高值。

1.6 皮内实验 取 POMs 掺杂的 CS/nano-HAP

复合材料 5 g 加入 10 mL 生理盐水,高温高压消毒,离心 5 min 取上清液受试,用生理盐水做对照,取白化兔 2 只,体重(1.96±0.2) kg,脊椎两侧剪毛,左侧用浸提液在皮内注射 10 个位点,每点 1 mL,右侧注射同样剂量生理盐水,观察注射点 24、48 和 72 h 后局部皮肤情况。

## 2 结 果

2.1 多金属氧酸盐纳米粒子掺杂的骨替代材料的表征 多金属氧酸盐纳米粒子掺杂的骨替代材料的红外光谱如图 1 所示,从图中可以看出,纳米线的吸收峰为 Dawson 结构的特征吸收峰,这说明多金属氧酸盐阴离子的骨架并未改变,多金属氧酸盐纳米粒子掺杂的骨替代材料中仍保留着杂多阴离子的 Dawson 结构。这对于多金属氧酸盐纳米粒子掺杂的骨替代材料的人工设计是至关重要的。

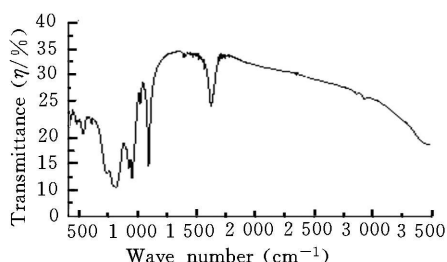


Fig. 1 FT-IR spectrum of sample

2.2 XRD 测试结果 图 2 显示出多金属氧酸盐纳米粒子的特征峰,图 3 出现多金属氧酸盐纳米粒子的特征峰,也出现了 HAP 的特征峰(25.8°、31.3°和 49.1°)。多金属氧酸盐纳米粒子掺杂的骨替代材料的特征峰的最强峰为(26.8°)。根据 Scherrer 公式:  $D = 0.9\lambda / (\cos\theta \cdot B)$ , 式中 D 为粒径尺寸(nm),  $\lambda$  为 X-射线波长(nm),为 0.15406 nm,  $\theta$  是最强峰角度,为 26.8°, B 是在此角度上行射峰的宽化,其数值可由下面公式计算:  $B^2 = B_a^2 - B_b^2$ , 式中  $B_a$  和  $B_b$  分别是被测样品和标准样品的最强峰的半高宽,由上述两式估算棒状晶体粒径尺寸为 20 nm 左右。与透射电镜得到的结果完全一致。

2.3 形貌分析 透射电镜照片中(见图 4)中可见,所得到的多金属氧酸盐纳米粒子掺杂的骨替代材料的晶体呈棒状,分散均匀,而且在尺寸是均一的。长为 100 nm,直径大约为 20 nm。较以往报

道的 nano-HAP 形状和尺寸, 其更接近自然骨中的 nano-HAP 晶体。通过大量晶体的长度和粒

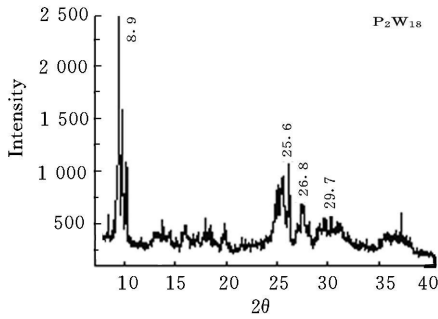


Fig. 2 XRD of polyoxometalate nano particle

径比较, 说明长度为 100 nm、直径大约为 20 nm 的晶体最多。

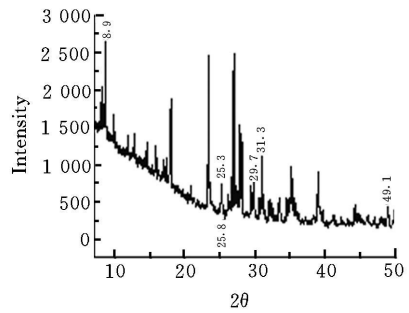


Fig. 3 XRD of Substitution material in bone fracture including polyoxometalate nano particle

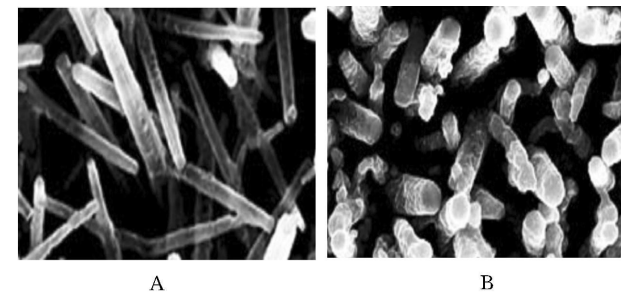


Fig. 4 TEM photographs of Substitution material in bone fracture including polyoxometalate nano particle  
A: × 50; B: × 100

度有利, 力学性能高于自然骨, 并高于已报道的 nano-HAP 复合材料的力学性能数据。

2.5 急性毒性实验 实验动物 2 周内一般状况良好, 活动、食欲正常, 呼吸平稳, 无惊厥、瘫痪、呼吸抑制、腹泻、运动减少、体重下降和死亡现象。给药高、低剂量组动物均无死亡, LD<sub>50</sub> 未检出。本实验中受试药物用量达 5 000 mg · kg<sup>-1</sup>, 按规定属实际无毒。

2.6 热原实验 从表 2 中可见实验动物体温升高幅度均低于 0.6℃, 并且实验动物中体温升高的总数为 0.7℃, 低于 1.4℃。表明受试物符合药典标准, 可以认为 POMs 掺杂的 CS/nano-HAP 复合材料不含致热原物质。

2.4 力学性能的测试 从表 1 中可以看出多金属氧酸盐纳米粒子 (POMs) 掺杂的骨替代材料对于提高 CS/nano-HAP 复合材料的弯曲强度、剪切强

Tab 1 Comparison between the complex material of CS/nano-HAP including POMs and the natural bone

Sample	Bending intensity (P/MPa)	Bending modulus (P/GPa)	Compressing intensity (P/MPa)	Compressing modulus (P/GPa)	Cutting intensity (P/MPa)
Natural bone	22.00	1.40	8.00	1.10	17.00
CS/nano-HAP	63.21	3.53	54.22	2.51	22.82
POMs+ CS/nano-HAP	79.78	4.68	67.66	4.39	26.38

Tab 2 The result of pyretogen

Group	Weight (m/kg)	Dose (V/mL)	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
1	1.9	19	39.0	39.1	39.2	39.2
2	1.8	18	38.9	39.0	39.2	39.2
3	2.0	20	38.9	39.0	38.9	39.1

2.7 皮内试验 局部注射后 24、48 及 72 h 实验侧及对照侧各点均无红肿、溃烂及渗液等情况出现, 未见明显皮肤刺激症状, 表明受试材料浸提液无刺激性。

### 3 讨论

多金属氧酸盐是一类优良的受体分子, 多金属氧酸盐化学的应用现已跻身于材料科学和药物化学

等领域<sup>[4,5]</sup>。其发展会为人类提供一类新的生物材料以及抗肿瘤、抗病毒药物。本文作者所报道的 POMs 掺杂的骨替代材料无论是形状、尺寸、粒子分散性都较以前文献<sup>[6]</sup>报道的更好,与自然人骨中的无机成分更接近,所以,可以断定 POMs 掺杂的 HAP 骨替代材料生物相容性及活性更好<sup>[7]</sup>。同时 POMs 具有抗病毒活性,弥补了以往骨材料抗病毒活性差的缺憾。生物相容性实验表明: POMs 掺杂的 CS/nano-HAP 复合材料无热原性、无毒,受试材料浸提液无刺激性。POMs 掺杂的骨替代材料必将扩大人造骨替代材料的应用范围,具有广阔的应用前景。

#### [参考文献]

[1] 魏杰,李玉宝. 纳米类骨磷灰石晶体的研制 [J]. 功能材

料, 2003, 4 (34): 471-472

- [2] 梁卫东. 细胞培养法评价生物材料生物相容性研究进展 [J]. 生物医学工程学杂志, 1999, 16 (1): 86-90
- [3] Stivastava S, Stephen DG. Screening of in vitro cytotoxicity by the adhesive test [J]. Biomaterials, 1990, 11 (3): 133-136.
- [4] 李娟,李静,齐燕飞,等. 12-钨硼酸 5-氟尿嘧啶盐的合成及抗癌活性研究 [J]. 高等学校化学学报, 2004, 25 (6): 1010-1012
- [5] 王宏芳,张欣,李娟,等. 硼钨酸嘧啶盐的抗肿瘤活性 [J]. 吉林大学学报: 医学版, 2005, 31 (3): 337-339
- [6] Dominic W, Tsutomu F. Preparation of porous composite implant materials [J]. Biomaterials, 2000, (21): 713-718.
- [7] 王涛,田卫东,刘磊,等. 新型多孔纳米双磷酸钙陶瓷支架体外细胞相容性的实验研究 [J]. 华西口腔医学杂志, 2005, 23 (2): 106-109

## 彩色多普勒超声诊断 30 例急性阴囊病变

大连医科大学附属第二医院超声科 张宇虹, 夏稻子, 林萍, 高林, 礼广森

本科应用彩色多普勒超声技术 (color Doppler flow image, CDFI) 诊断 30 例急性阴囊病变, 现报道如下。

### 1 资料与方法

一般资料: 本院住院及门诊急性阴囊病变患者 30 例, 年龄 17~65 岁。患者症状主要以阴囊疼痛为主。仪器与方法: 采用仪器为 GE Vivid 7 及飞利浦非凡彩色多普勒超声仪, 探头频率为 5~14MHz 及 5~12MHz。检查采用仰卧位, 充分暴露阴囊, 适当撑托睾丸, 左右对比扫查。二维超声主要观察睾丸及附睾的大小、回声改变以及是否并发鞘膜积液等。CDFI 显示睾丸及附睾血流情况, 观察血流信号是否消失、减少或增多。

### 2 结果

30 例患者均为单侧病变, 睾丸扭转 10 例, 急性睾丸炎 2 例, 急性附睾炎 14 例, 急性睾丸炎并发附睾炎 4 例。10 例睾丸扭转均经手术证实, 其中 8 例术后恢复正常, 2 例发生坏死切除睾丸。急性睾丸炎及附睾炎均经临床及随诊观察证实诊断。CDFI 表现: 睾丸扭转示睾丸内血流信号消失; 急性睾丸炎示睾丸内血管扩张, 血流信号明显增多, 呈彩球状; 急性附睾炎示附睾血流信号明显增多。二维超声表现: 睾丸扭转中 2 例坏死睾丸实质回声不均匀, 可见局限的坏死灶, 8 例与正常睾丸表现一致; 急性睾丸炎表现为睾丸增大, 可见片状低回声区; 急性附睾炎表现为附睾增大, 以尾部为主, 内回声不均匀, 有的可见不规则液性暗区。5 例睾丸扭转及所有急性睾丸炎和附睾炎均伴有鞘膜积液。

### 3 讨论

急性阴囊病变在临床并不少见, 主要包括睾丸扭转、急性睾丸炎及急性附睾炎, 急性睾丸炎常并发附睾炎。睾丸扭转又称精索扭转, 因精索扭转造成睾丸血液循环障碍, 从而引起睾丸缺血乃至坏死。睾丸扭转一旦发生就应在短时间内明确诊断进行手术, 超过 24 h 睾丸大多数发生坏死。而急性睾丸炎及附睾炎不需要手术治疗。但临床缺乏特异性体征, 仅依靠病史和体格检查往往会造成误诊。

CDFI 可以清楚地显示睾丸及附睾内的血流情况。本研究中 10 例睾丸扭转睾丸内血流信号消失, 除 2 例睾丸发生坏死外, 其余的二维声像图与正常睾丸并无明显差别。所以 CDFI 对睾丸扭转的诊断具有决定性作用。急性睾丸炎及附睾炎的 CDFI 表现与睾丸扭转正相反, 表现为血流信号明显增多, 结合病史和二维声像图表现基本可以明确诊断。但是对于睾丸扭转要注意假阳性和假阴性的问题。主要是由于仪器调整不当、睾丸发生不全扭转或扭转后松解所致。仪器调整要注意彩色增益要适当, 彩色速度标尺要合适 (一般 5~6 cm·s<sup>-1</sup>)。不全扭转或扭转后松解并不常见, 诊断往往存在困难, 尚需密切结合临床并随诊观察。总之, CDFI 对于急性阴囊病变的诊断和鉴别诊断具有重要价值, 是首选的影像学检查方法。

(邮编: 辽宁大连 116024)