

进入到滑液中,在血液中可以发现。前期对 OA 及 RA 患者血清 COMP 水平的研究发现,与仅有滑膜损害的关节炎患者及正常人群比较,只有软骨受到明显损害的关节炎患者如 RA 才会出现 COMP 的显著升高,而与其他滑膜关节炎患者比较差异不大^[7]。由此推测,COMP 与关节软骨及滑膜炎有关,COMP 可以作为软骨破坏的标志物,而不与 OA 或 RA 的发生呈特异性。

PSA 亦为炎性关节炎,放射学改变为远端指间关节炎、骶髂关节炎及脊柱炎,骨破坏伴新骨形成。其放射学改变可能与 RA 同样严重⁸。由此推测,其血清 COMP 水平亦可能增高。本试验验证了此推测,与正常人血清 COMP 水平相比,PSA 患者血清 COMP 水平显著升高。值得注意的是,与对照组的患者相比,PSA 患者血清 COMP 水平亦呈显著升高。与放射学的相关性研究亦提示 PSA 患者血清 COMP 水平与影像学改变相关。上述结论提示血清 COMP 水平升高提示存在关节软骨破坏,存在关节破坏危险。

传统的炎性标记物如 ESR、CRP 虽可表示关节炎活动,但不能提示是否存在关节结构破坏,或预测是否会出现关节破坏,通常认为即使控制了疾病炎性病程,但关节病变仍可持续进展,五年随访发现,累及 5 个或 5 个以上关节的患者人数几乎增加了 2 倍^[1]。放射学检查虽可发现关节破坏,但发现时破坏已形成,且难以做到早期疗效评价。COMP 可一定程度上弥补这些缺陷。它虽不具备关节炎诊断特异性,但它有助区分侵袭与非侵袭性关节炎,具有一定鉴别诊断价值。

目前银屑病性关节炎药物治疗包括非甾体抗炎药、柳氮磺胺吡啶、金制剂、抗疟药、青霉胺、硫唑嘌呤、甲氨蝶呤、维甲酸衍生物以及近年出现的来氟米特及生物制剂。显而易见,这些药物存在着副作用和/或治疗代价大的问题。目前对于上述药物疗效的评价亦集中于关节及皮肤临床症状的缓解程度,对放射学改变是否有效缺乏客观有效的评估手段。而一向多变量分析表明,初始治疗药物剂量大、放射学改变与银屑病性关节炎患者整体死亡率增加相关^[9]。因此,合理、适当的治疗极为重要。血清 COMP 升高提示或预示存在关节损坏,提示应给予更积极地治疗。同时,

动态监测血清 COMP 有助评价治疗方案能否延缓或阻止关节软骨破坏。

受病例数及试剂来源影响,本研究纳入病例数较少,还需进一步扩大样本量,并进行下一步随访及放射对照研究。

参考文献

- [1] Gladman DD: Natural history of psoriatic arthritis. *Baillière Res Clin Rheumatol* 8: 379, 1994.
- [2] Hedborn E, Antonsson P, Hejpe A et al: Cartilage matrix proteins. An acidic oligomeric protein (COMP) detected only in cartilage. *J Bio Chem* 1992; 267: 6132-6.
- [3] Desiree van der Heijde. How to read radiographs according to the Sharp/van der Heijde method. *J Rheumatol* 2000; 27: 261-3.
- [4] Gladman DD: Criteria for psoriatic arthritis. *Baillière Res Clin Rheumatol* 9: 319, 1995.
- [5] Gladman DD, Shuckett R, Russell ML, et al: Psoriatic arthritis. Clinical and laboratory analysis of 220 patients. *Q J Med* 62: 127, 1987.
- [6] 张鹏,郑昱新,石关桐. 软骨寡聚基质蛋白及临床意义. 国外医学. 骨科学分册, 2005; 26(4): 232-234.
- [7] 吴敏,潘解萍,马英淳. 血清软骨寡聚基质蛋白 (COMP) 检测在关节炎患者中的意义研究. *中华风湿病学杂志*, 2008; 12(8): 27-29.
- [8] Rahn P, Gladman DD, Cook RJ et al: Radiological assessment in psoriatic arthritis. *Br J Rheumatol* 37: 760-765, 1998.
- [9] Gladman DD, Farewell VT, Wong K, Husted JM et al: Prognostic indicators for death. *Arthritis Rheum* 41: 1103, 1998.

作者简介: 马英淳,男,生于 1973 年 10 月,汉族,湖北黄石籍,本科,主治医师,苏州大学附属第一医院免疫风湿科临床硕士在读,研究方向:免疫风湿疾病。

明胶-硅氧烷多孔支架材料原位诱导兔颅骨再生的实验研究

杨芳裕^{1,2} 康江河¹ 王军² 任磊²

1. 厦门大学附属中山医院,福建 厦门 361004 2. 厦门大学生物医学工程研究中心,福建 厦门 361001

【摘要】目的: 研究明胶-硅氧烷多孔支架材料混合多种材料用以原位诱导兔颅骨再生的效果。**方法:** 采用可降解、具有双孔径的明胶-硅氧烷多孔支架材料,并复合 BMP2 和兔骨髓间质干细胞,在去骨瓣减压手术时将材料置于骨窗上,同时采用空白对照来探讨兔颅骨原位诱导再生。用高速螺旋 CT 扫描颅骨并三维重建来测量颅骨缺损的愈合情况,并作出比较。**结果:** 支架材料+ BMP 组动物的颅骨修复率与支架材料+ 红骨髓组动物的修复率相当 ($P=0.43$); 支架材料+ 红骨髓组动物的颅骨修复率高于单纯支架材料组动物的修复率 ($P=0.01$); 单纯支架材料组动物的颅骨修复率与空白对照组动物的修复率无明显差别 ($P=0.18$)。**结论:** 明胶-硅氧烷-Ca(NO₃)₂ 多孔复合支架材料分别与 BMP 以及红骨髓混合使用能够明显提高颅骨缺损的骨愈合速度以及修复率; 而单纯使用支架材料并不能促进实验动物的颅骨修复。

【关键词】 颅骨缺损; 明胶-硅氧烷多孔支架材料; BMP-2

Experimental study of using GSPS for in situ osteogenesis induction on rabbit skull

YANG Fang-yu¹, KANG Jiang-he¹, WANG Jun², REN Lei². 1. Department of Neurosurgery, The Affiliated Zhongshan Hospital of Xiamen

University (X ian en, 361004); 2 The B imedical Engineering Research Center ofX ian en University (X ian en, 361002).

【Abstract】Objective To investigate the effect of using GSPS for in situ osteogenesis induction on rabbit skull **Metho ds** The biodegradable with double- aperture gelatin - siloxane porous scaffold materials was maked with BMP2 or rabbit bone marrow mesenchymal stem cells to fix the skull bone deficit after craniectomy decompression. A blank control was set to compare with the effect of in situ osteogenesis of rabbit skull. High- speed spiral CT scanning and three- dimensional reconstruction of the skull was performed to inspect the healing progress of skull defects. **Results** The GSPS + BMP group had the equal bone healing rate as the GSPS+ bone marrow group ($P= 0.43$); and the GSPS + bone marrow group had the higher bone healing rate than the GSPS group ($P= 0.01$). There were no significant difference on bone healing rate between GSPS group and blank control group ($P= 0.18$). **Conclusion:** Gelatin- siloxane- Ca (NO₃)₂ porous scaffolds could be used with the BMP, as well as red bone marrow to improve the bone healing of skull bone defect while no significant effect could be observed using GSPS solely.

【Key words】 Bone defect; Gelatin- siloxane- Ca (NO₃)₂ porous scaffolds; BMP- 2

骨具有再生和自我修复能力,但如果对于由肿瘤、外伤、骨疾及骨异常生长所造成的骨缺损,在单纯依靠骨的自我修复无法愈合的情况下,则需要采用外科手术治疗,骨缺损的质量是长期困扰外科医生的一个棘手难题。

在此,我们选用 Ren U¹¹等通过溶胶-凝胶法和冷冻干燥法制备的明胶-硅氧烷-Ca(NO₃)₂多孔复合支架材料(Gelatin-Siloxane Porous Scaffold GSPS),在手术过程中分别复合 BMP2和兔骨髓间充质干细胞,该材料质地软,不影响骨窗的减压效果,在去骨瓣减压手术结束后将材料放置在骨窗上,同时采用空白对照来探讨颅骨原位诱导再生。

1. 材料和方法

1.1 材料的基本性能。本实验所用支架材料的原料由厦门大学生物医学工程中心提供,使用明胶与 3-(2,3-环氧丙氧)丙基三甲氧基硅烷(GPSM)以及硝酸钙,结合溶胶-凝胶法与冷冻干燥法,制备得明胶-硅氧烷-Ca(NO₃)₂多孔复合支架材料。该材料具有大小不同的双孔径,大孔径在 100~300μm 范围内,有利于细胞的长入。其小孔结构提高了支架材料的性能,密集畅通的小孔结构可以更好的为细胞长入提供营养物质与代谢废物运输的通道。样品的热稳定性由 NETZSCH DSC204 以 10℃/min 的升温速度测得;样品的结构采用日本理学 D/max2200pc 自动 X2 射线衍射仪进行测定;样品的结构基团采用德国布鲁克公司 VECTOR222 傅立叶红外光谱仪进行测定。

1.2 实验的分组。动物实验在厦门大学生物医学工程重点研究中心完成。取 2 月龄新西兰大白兔,SPF 级,体质量 2kg 左右,雌雄不限,共 40 只。所有动物均由上海实验动物中心提供,许可证号医动字第 04-54-4 号。实验过程中动物处置符合动物伦理学标准。将 40 只新西兰兔随机分成 4 组,分别为支架+ BMP 组,支架+ 红骨髓组,单纯支架组和空白对照组。每组 10 只,雄雌随机分配,平均体重分别为 1.95kg、1.98kg、2.01kg 和 1.97kg,体重之间无统计学差异 ($p > 0.05$)。

1.3 手术方法。将新西兰大白兔用 3% 的戊巴比妥钠 1 mL/kg 耳缘静脉注射麻醉,无菌条件下于头部正中额顶交界处切开长约 2cm 切口,钝性分离其颅骨外侧皮肤,暴露其颅骨面,2.5mm 直径钻头气动磨钻在额顶骨交界处正中线附近钻取一个圆形直径 1cm 骨缺损。将单纯的明胶-硅氧烷三维多孔支架材料(厦门大学生物医学工程中心)以及分别复合 BMP2(北京博奥森生物技术有限公司)、红骨髓的支架材料分别植入其缺损部位,同时用手术刀与止血钳制做直径大约为 1cm 的缺口,但不植入材

料,做为空白对照组。每只兔子的手术时间控制在 20min 以内,出血控制在 10~15mL。术后用缝线严密缝合切口,体积分数为 0.75 的乙醇消毒切口后分笼饲养。

1.4 术后观察。所有分组中的兔子分别在术后当时以及 1、2、3、4、5 个月后用乙醚麻醉后行头颅 CT 扫描,观察颅骨缺损部位的愈合情况。扫描参数:GE 公司的 Light Speed 64 螺旋 CT,120 kV、60 mA;层厚 0.64 mm,层距 1 mm,螺距比 1:375:1。扫描完成后均行内插重建,层厚 0.64mm、层距 1 mm。以容积再现(volume rendering, VR)技术进行重建(图 1)。



图 1 实验兔术后颅骨 CT 扫描 VR 重建测量(单位: mm)

Figure 1 Postoperatively measurement of bone defect on CT

在 CT 工作站上使用 ADW 4.0 测量不同时期颅骨缺损切面的面积大小,比较不同组实验兔在同一时期的颅骨缺损面积的均值,并计算出不同组的成骨速度。使用 SPSS for windows v16.0.1 (SPSS Inc Chicago, USA) 软件和 Microsoft Office Excel 2003 (Microsoft Corporation, Seattle, USA) 软件进行统计分析以及绘制图表。

2 结果

2.1 支架+红骨髓组中有 1 只兔子在术后 1 周发现伤口感染,予以排除组外,另单纯支架组有 1 只在术后 2 月用乙醚麻醉行 CT 检查是怀疑麻醉过深导致死亡。其余 38 只实验动物术后情况良好,饮食、活动均无异常,伤口未见明显红肿、破溃、流脓等不良应。

2.2 支架材料+ BMP2 组中所有实验动物在随访 5 月后均达到颅骨缺损的临床愈合,支架材料+红骨髓组中有 6 只达到临

床愈合,其余 3 只仍有颅骨缺损,缺损面积均值为 $1.96 \pm 2.0 \text{ mm}^2$,修复率为 97.51%。单纯支架材料组中实验动物全部未达到临床愈合,其缺损面积均值为 $31.76 \pm 5.0 \text{ mm}^2$,修复率为 60

63%。空白对照组中实验动物也全部未达到临床愈合,其缺损面积均值为 $34.26 \pm 4.8 \text{ mm}^2$,修复率为 56.19%,差于单纯支架组(如表 1)。

表 1 不同分组的动物在不同时期的颅骨缺损面积均值 (mm^2)及修复率 (%)

Table 1 Bone defect and healing rate in different period among groups

	0月		1月		2月		3月		4月		5月	
	面积	修复率	面积	修复率	面积	修复率	面积	修复率	面积	修复率	面积	修复率
支架材料 + BMP2	79.2 ± 3.1	0	51.35 ± 2.7	35.16	17.26 ± 3.6	78.21	7.92 ± 3.8	90.00	3.96 ± 3.5	95.00	0	100
支架材料 + 红骨髓	78.68 ± 2.8	0	54.37 ± 2.3	30.90	25.18 ± 4.2	68.00	20.46 ± 4.5	74.00	7.08 ± 3.8	91.00	1.96 ± 2.0	97.51
单纯支架材料	79.40 ± 2.8	0	60.34 ± 5.0	24.01	46.58 ± 4.7	41.34	38.13 ± 5.3	51.98	34.16 ± 5.6	56.98	31.26 ± 5.0	60.63
空白对照	78.21 ± 3.2	0	61.78 ± 4.7	21.01	48.02 ± 5.3	38.60	40.69 ± 5.7	47.97	37.05 ± 5.3	52.63	34.26 ± 4.8	56.19

2.3 数据提示,支架材料 + BMP2组和支架材料 + 红骨髓在各个不同时期的修复率和修复速度分别大于单纯支架材料和空白对照(图 2)。

前最符合神经外科医生的要求。但以上方法都存在一最大的缺点,即再次手术,修补颅骨时需切开头皮,暴露骨窗,有时导致脑组织的再次损伤。

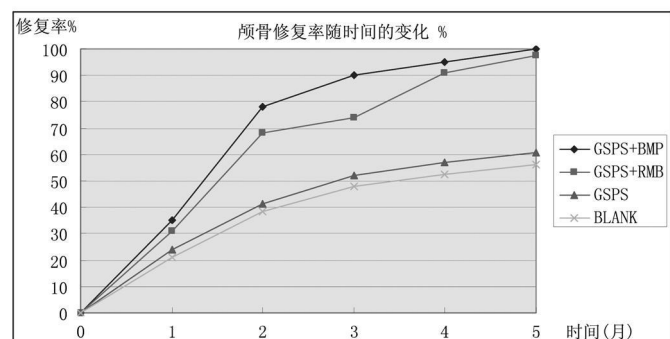


图 2 兔子颅骨修复率随术后时间的变化

Table 2 The periodically dependent healing rate of bone defect

GSPS+ BMP为支架材料 + BMP2的实验组, GSPS+ RMB为支架材料 + 红骨髓的实验组, GSPS为植入单纯材料的实验组, BLANK为空白对照

通过对均数的方差分析可发现,不同分组实验动物的在不同时期颅骨修复率的差异有统计学意义 ($P=0.01$)。进一步采用 S-N-K 法的 PostHoc Test 方差分析对支架材料 + BMP2组和支架材料 + 红骨髓的修复率以及对单纯支架材料和空白对照的修复率进行比较,结果提示支架材料 + BMP组动物的颅骨修复率与支架材料 + 红骨髓组动物的修复率相当 ($P=0.43$); 支架材料 + 红骨髓组动物的颅骨修复率高于单纯支架材料组动物的修复率 ($P=0.01$); 单纯支架材料组动物的颅骨修复率与空白对照组动物的修复率无明显差别 ($P=0.18$)。

结果表明:本实验采用的明胶-硅氧烷- $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 多孔复合支架材料分别与 BMP 以及红骨髓混合使用能够明显提高颅骨缺损的骨愈合速度以及修复率;而单纯使用支架材料并不能促进实验动物的颅骨修复。

3. 讨论

3.1 颅内压增高会导致脑疝,使病人丧失生命。去骨瓣减压是抢救病人的一个重要手段。手术过后,病人度过危险期,颅压下降,此时存在颅骨缺损的问题,即可使用材料修补颅骨。修补颅骨使用的材料有自体骨、有机玻璃、硅胶、钛网等,而钛网目

采用颅骨成形术后,能够改善脑血流动力学,使颅骨缺损邻近部位的脑血流量增加 15% ~ 30% [2]。Dufoyng 等 [3] 发现:修补术后可使静脉回流加快,脑脊液循环速度增加 1 倍。术后可以松懈皮瓣与硬脑膜及骨窗边缘的连接,解除其对脑表面血管的牵拉、扭曲、压迫。另外,解除了硬脑膜与皮瓣、大脑皮质间的瘢痕对颅脑内容物的直接压迫,去骨瓣减压时间越长,骨瓣越大,上述压迫症状在修补术前越明显,颅骨成形术对改善脑神经功能具有重大意义 [4]。

3.2 BMP 是一类酸性多肽,具备诱导未分化的间充质细胞不可逆地分化为软骨细胞和成骨细胞,从而形成新骨的生物学活性,它是机体内众多生长因子中,唯一能够单独诱导骨组织形成的局部生长因子 [5]。目前,已分离并克隆出 7 种人的成骨蛋白 cDNA,动物实验已经证明其中 3 种蛋白具有高度的异位诱导成骨活性,它们分别是:成骨蛋白-1 (osteogenic protein-1, 即 BMP-7), BMP-2 (亦称 BMP-2A) 和 BMP-4 (亦称 BMP-2B) [6]。BMP-2 是目前研究最广泛、诱导成骨活性最强的 BMPs 之一,也是被美国 FDA 批准的唯一能应用于临床上治疗骨愈合的 BMPs [7]。BMP-2 是胚胎及多种器官和组织发育所需要的一种蛋白在多种组织再生中扮演着重要的角色。很多研究显示, BMP-2 在骨折愈合、骨缺损修复、肌腱和韧带与骨的再整合、软骨修复作为 BMP 的结合载体应满足三点要求: ① 应具有机械支持及空间占位作用。② 载体与 BMP 结合后应能减缓后者释放与吸收。③ 植入体植入后易被机体降解吸收替代 [8]。

与植入单纯材料和作为空白对照组的相对比,通过 CT 图观察到:复合 BMP-2 的支架材料治疗组以及复合红骨髓组动物的颅骨新骨促进率提高,故复合支架材料复合 BMP-2 后能在很大程度上促进新骨的生成,促进缺损颅骨的修复。

3.3 红骨髓内含含有定向性骨祖细胞 (DOPC) 和诱导性骨祖细胞 (IPCC),具有定向分化或在诱导因子作用下分化为成骨细胞的能力 [9]。自体红骨髓移植可向骨不连和骨缺损部位提供成骨细胞、间叶细胞和细胞刺激因子以获得治疗作用。其主要机理为 [10]: 红骨髓含有造血细胞和基质,基质中的骨祖细胞、未分化的间充质细胞有定向分化为成骨细胞的能力。在各种诱导或刺

激因子如植入区基质释放的诱导因子、植入区周围软组织释放的诱导因子或刺激因子、红骨髓本身释放的可溶性诱导因子的作用下,骨祖细胞、未分化的间充质细胞向成骨细胞转化,并可引导周围的间充质细胞向植入区转移、分化成线状排列的成骨细胞,进而成骨,这即为骨诱导的过程。

3.4 本实验在作为支架的组织工程骨并未观察到明显的组织炎症,虽然GSPS作为组织工程支架的缺点之一是引起植入部位的炎症反应,但在本实验中并未观察到这一现象。另外实验动物的雌雄分配为随机分配,从而将动物性别不同导致的激素种类及水平不同这一可能影响骨愈合的因素排除在外。本实验采用一般的多排快速CT扫描以及3D重建来测定一个小面积骨缺损的变化,从宏观上观察骨的愈合过程。实验中无法获取微型CT,从而无法了解骨愈合过程中骨小梁的动态变化情况。本实验观察的时间只有5个月,再造出的骨内骨小梁重建塑性情况如何,还有待于较长时间的实验观察,而且所形成的骨痂的生物力学性能还有待于试验的验证,骨与原有骨面之间界面的结合力尚需要量化指标的测量。

综上所述与植入单纯材料和作为空白对照组的相对比,复合骨髓间充质干细胞以及BMP的支架材料与本实验中的支架材料能够很好的相容生长并形成新骨,并且能够获得良好的固位,从而为应用组织工程修复大段骨缺损提供良好的基础。

参考文献

- [1] REN L, TSURU K, HAYAKAWA S, et al. Novel approach to fabricate porous gelatin-siloxane hybrids for bone tissue engineering [J]. *Biomaterials*, 2002, 23(24): 4765-73
- [2] 张立杰. 颅骨修补材料的临床应用及研究现状. *中国组织工*

- 程研究与临床康复, 2008, 10(12): 1939-1942
- [3] DUFOYNG M, FEMANDEZ P, ALPER N N, et al. Post-cranioplasty cerebrospinal fluid hydrodynamic changes magnetic resonance imaging quantitative analysis. *NeuroRes* 1997, 19: 311-316
- [4] 张世中, 邹志浩, 徐如祥. 颅脑外伤后同期脑室-腹腔分流及颅骨修补的疗效分析 [J]. *中华神经外科杂志*, 2005, 21(8): 494-496
- [5] COOK SD, BAFFES GC, WOLFE MW, et al. The effect of recombinant human osteogenic protein-1 on healing of large segmental bone defects [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 1994, 76: 827.
- [6] WANG EA, ROSEN V, DALESSANDRO JS, et al. Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87: 2220
- [7] 张宏斌, 武婕, 詹纯列, 张余, 付娜, 王捷. 重组人BMP-2生物活性的鉴定. *药物生物技术* [J]. 2009, 16(2): 123-126
- [8] LEE FY, STORER S, HAZAN EJ, et al. Repair of bone allograft fracture using bone morphogenetic protein2 [J]. *Cl in Orthop*, 2002, 397: 119.
- [9] 胡蕴玉. 骨诱导及骨愈合分子生物学研究进展. *中华骨科杂志*, 1997, 17: 17-19
- [10] 刘光萍, 杨佑成, 刘永涛, 蔡磊. 兔骨髓间充质干细胞生物学特性的实验研究. *实用医学杂志*, 2009, 25(14): 2229-2231.

成都双流机场职工接种乙肝疫苗的效果分析

朱祥胜¹ (2007MPH 研究生) 李宁秀¹ (指导老师) 黄琴² 赵蜀莉² 李长荣²

1 四川大学华西公共卫生学院, 四川 成都 610041; 2 成都双流国际机场医疗救护中心, 四川 成都 610202

【摘要】目的: 了解机场职工接种乙肝疫苗以后产生抗-HBs情况, 观察乙肝疫苗免疫接种效果, 探讨注射乙肝疫苗后不同年龄、不同性别之间抗-HBs阳性率的差异。方法: 将2006~2008年度机场职工年度体检所检测的抗-HBs资料结合同期接受乙肝疫苗预防注射的档案进行回顾性研究, 比较接种乙肝疫苗前后抗-HBs的差异。结果: 研究对象276人。经预防接种乙肝疫苗以后, 抗-HBs阳性率为79.2%, 接种后抗-HBs阳性率明显高于未接种者 ($\chi^2=26.857$ $p=0.000$), 具有统计学意义。结论: 接种乙肝疫苗是目前预防乙型肝炎的最有效措施, 实施乙肝疫苗接种, 对于基层单位做好职工的预防保健工作中具有十分重要的意义。

【关键词】 肝炎疫苗; 乙型; 肝炎抗体

Immune effects of vaccine Hepatitis B for staff of Chengdu shuangliu International Airport

ZHU Xiang-sheng, HUANG Qing ZHAO Shu-li, LI Chang-rong. 2007MPH, West China school of Public Health Sichuan University, Sichuan 610041, China Corresponding author: ZHU Xiang-sheng Email: zhuxsh@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the immune effects of vaccine Hepatitis B for staff of Chengdu shuangliu International Airport, to reach the different effects about the positive rate of Anti-HBs after vaccine. **Methods** Selected the health file of staff of Chengdu shuangliu international Airport those were given the Anti-HBs test between 2006~2008 and compare them with vaccination of Hepatitis B with one standard schedule or not. **Result** About 276 samples the anti-HBs positive rate was 79.2%, there was significant difference ($\chi^2=26.857$ $p=0.000$).

Results HBs B vaccine should be in the effect of prevention Hepatitis B and promoting the health of the staff

【Key words】 Hepatitis B vaccines Hepatitis B antibodies