

基础研究

纳米羟基磷灰石/聚酰胺 66 复合物椎间融合器
在山羊颈椎融合中的应用

陈日高, 屠重琪, 裴福兴, 段 宏, 刘立岷, 宋跃明

(四川大学华西医院脊柱外科 610041 四川省成都市)

【摘要】目的:观察纳米羟基磷灰石/聚酰胺 66 复合物(n-HA/PA66)椎间融合器在山羊颈椎前路融合中的效果。**方法:**15 只成年雌性山羊随机分成 A、B、C 组, 每组 5 只, 均行经前路 C3/4 椎间盘切除术, A 组椎间置入 n-HA/PA66 椎间融合器植骨; B 组置入钛网植骨; C 组采用自体三面皮质髂骨块植骨。分别于术前、术后、术后 4 周、8 周及 12 周拍 X 线片观察测量各组手术节段平均椎间高度(disc space height, DSH)、椎间角(intervertebral angle, IVA)及前凸角(lordosis angle, LA); 12 周时处死动物取颈椎标本进行生物力学测试及组织学检查。**结果:**术前三组 DSH、IVA 和 LA 无显著性差异。术后即刻及术后 4 周三组间 DSH 无显著性差异($P>0.05$); 术后 8 周及 12 周, A 组 DSH 与 B、C 组有显著性差异($P<0.05$); B 组和 C 组差别无显著性($P>0.05$)。术后即刻及术后 4 周、8 周三组间 IVA 无显著性差异($P>0.05$); 术后 12 周, A、B 组 IVA 与 C 组有显著性差异($P<0.05$), A 组与 B 组无显著性差异。术后即刻及术后 4 周、8 周三组间 LA 差异无显著性($P>0.05$); 术后 12 周, A、B 组 LA 与 C 组有显著性差异($P<0.05$), B 组与 C 组无显著性差异。术后 12 周时, A、B 组颈椎标本各向角位移与 C 组有显著性差异($P<0.05$); 除后伸外 A 组各向稳定性优于 B、C 组; 平均刚度均强于 B、C 组; ROM 均小于 B、C 组($P<0.05$)。A 组在植骨区和椎间融合器边缘可见大量成熟的骨小梁组织, 材料交界处可见大量纤维骨痂及新生骨形成, 骨组织与材料表面已发生嵌合; B 组的植骨块与椎体间的新生骨小梁已改建为成熟的骨小梁, 部分区域尚可见未完全矿化的类骨质; C 组可见较多的纤维骨痂形成, 在骨小梁表面有红色的类骨质, 部分区域有成熟的骨小梁。**结论:**n-HA/PA66 椎间融合器能有效维持椎间隙高度, 促进山羊颈椎前路植骨融合。

【关键词】纳米羟基磷灰石/聚酰胺 66 复合物; 椎间融合器; 颈椎; 融合术; 山羊

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2010.04.07

中图分类号: R318.08, R687.3 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2010)-04-0286-05

Nano-hydroxyapatite and polyamide 66 complex intervertebral cage for anterior cervical fusion in goat/CHEN Rigao, TU Zhongqi, PEI Fuxing, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2010, 20 (4): 286~290

【Abstract】Objective:To observe the efficacy of nano-hydroxyapatite and polyamide 66(n-HA/PA66) complex intervertebral cage for anterior cervical fusion in goat.**Method:**15 goats were randomly divided into group A, B and C ($n=5$). C3/4 intervertebral disc resection was performed in all animals. Animals in group A underwent n-HA/PA66 intervertebral fusion cage, group B had titanium cage and group C had tricortex ilium bony-graft. The disc space height(DSH), intervertebral angle(IVA) and lordosis angle(LA) at this segment were observed by X ray preoperatively, and postoperatively, and at 4 weeks, 8 weeks and 12 weeks respectively. The C3/4 specimens were harvested at 12 weeks postoperatively to carry out biomechanical and histological test.**Result:**There was no significant difference with respect to DSH, IVA and LA among 3 groups. There was no significant difference with respect to DSH among 3 groups postoperatively immediately and 4 weeks postoperatively ($P>0.05$). While at 8 and 12 weeks postoperatively, significant difference existed in group A and B, C with respect to DSH($P<0.05$). There was no significant difference with respect to IVA among 3 groups postoperatively immediately, 4 and 8 weeks postoperatively($P>0.05$). At 12 weeks postoperatively, significant difference existed in group A, B and C with respect to the IVA($P<0.05$). There was no significant difference with regard-

基金项目: 国家科技支撑项目课题(编号: 2007BAE131304)

第一作者简介: 男(1979-), 医师, 医学博士, 研究方向: 脊柱外科(现在四川省骨科医院脊柱创伤科 610041 成都市)

电话: (028)85422426 E-mail: B060758@163.com

通讯作者: 宋跃明 E-mail: sym_cd@yahoo.com.cn

ing to LA among 3 groups postoperatively immediately, 4 and 8 weeks postoperatively ($P>0.05$). At 12 weeks postoperatively, significant difference existed in group A, B and C with respect to the LA, but no significant difference was noted between A and B. There were significant difference of angle translation in group A and B compared with group C ($P<0.05$). Group A had better stiffness than group B and C, while ROM in group A was the contrary except in extension. There were amount of mature trabecula within graft site and around the cage in group A. While in group B, new born trabecula rebuilt as mature trabecula, but demineralized bone still existed in some area. In group C lots of fibrosis trabecula together with small quantity of mature trabecula was evidenced in the graft site. **Conclusion:** n-HA/PA66 intervertebral cage can maintain intervertebral disc height effectively and improve anterior cervical intervertebral fusion rate in goat.

【Key words】 Nano-hydroxyapatite and polyamide 66; Intervertebral fusion cage; Fusion; Cervical vertebra; Goat

【Author's address】 Department of Orthopedics, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu, 610041, China

颈椎前路减压融合术是治疗颈椎伤病的主要术式之一。由于自体骨和异体骨作为重建材料的缺点^[1,2],应用颈椎椎间融合器的研究相继报道,但亦存在融合失败、融合器下沉等问题^[3,4]。纳米羟基磷灰石/聚酰胺 66 复合物(n-HA/PA66)是比较理想的负重部位骨替代修复材料^[5-7],用该材料制备的椎间融合器符合生物学及生物力学要求^[7]。本研究将 n-HA/PA66 制成的椎间融合器应用于山羊颈椎前路椎间融合术,观察其融合效果。

1 材料与方法

1.1 椎间融合器的设计与制作

测量 15 只成年(1~2 岁)雌性山羊颈椎 C3/4 节段平均椎间高度(disc space height, DSH)、前凸角(lordosis angle, LA)、椎间角(intervertebral

angle, IVA), 测量方法见图 1。测得 DSH 平均为 $4.01\pm 0.11\text{mm}$, LA 平均为 $5.15^\circ\pm 0.46^\circ$, IVA 平均为 $7.44^\circ\pm 1.05^\circ$ 。根据所获得的 C3/4 解剖参数设计椎间融合器的大小: 高度 5mm, 外径 12mm, 内径 8mm, 壁周孔径 1mm, 由四川国纳科技有限公司制作 n-HA/PA66 椎间融合器(图 2)。

1.2 动物分组及手术方法

15 只成年雌性山羊随机分成 A、B、C 三组, 每组 5 只。所有动物麻醉成功后取平卧位, 拍颈椎侧位 X 线片。颈部垫高, 显露 C3/4 椎间盘并切除, 用刮匙刮除软骨终板致骨面有均匀渗血, 不刻意切除后纵韧带或暴露椎管, 置入内植物并固定。A 组应用 n-HA/PA66 椎间融合器植骨(图 3、4), B 组应用钛网椎间融合器植骨, C 组应用自体三面皮质髂骨植骨。术后应用抗生素 3d 预防感染。

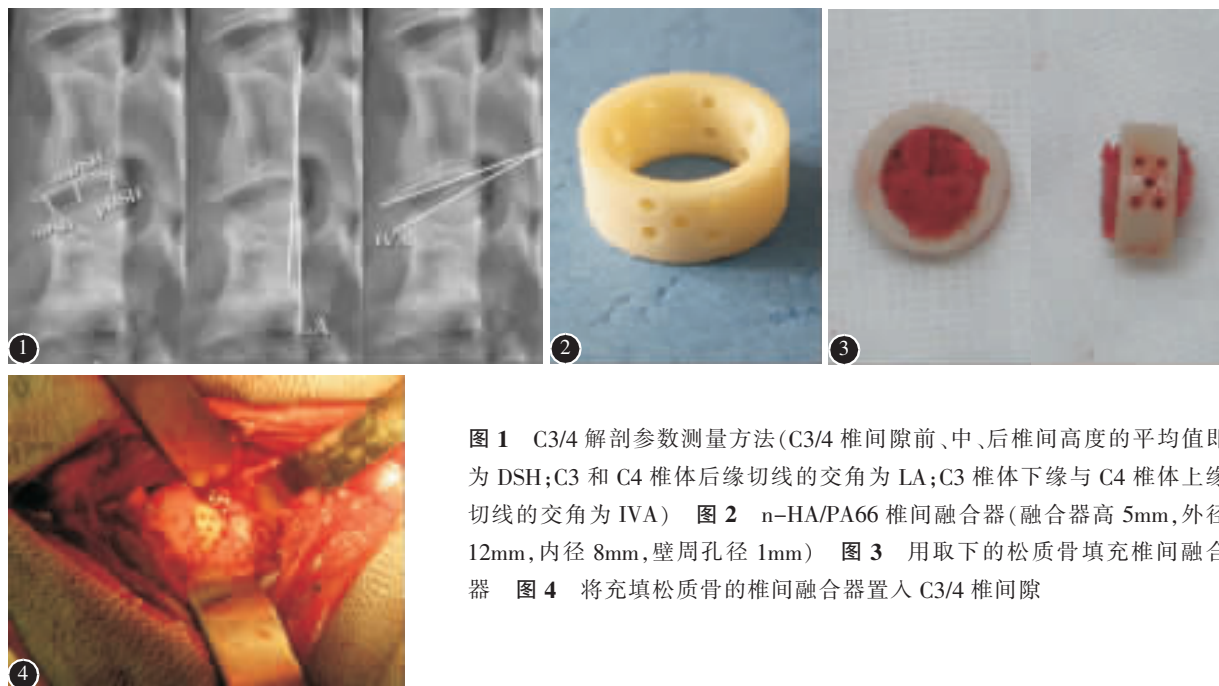


图 1 C3/4 解剖参数测量方法(C3/4 椎间隙前、中、后椎间高度的平均值即为 DSH; C3 和 C4 椎体后缘切线的交角为 LA; C3 椎体下缘与 C4 椎体上缘切线的交角为 IVA) 图 2 n-HA/PA66 椎间融合器(融合器高 5mm, 外径 12mm, 内径 8mm, 壁周孔径 1mm) 图 3 用取下的松质骨填充椎间融合器 图 4 将充填松质骨的椎间融合器置入 C3/4 椎间隙

1.3 观察方法

术后观察动物肢体活动、进食和伤口愈合情况等。术后以及术后 4、8、12 周摄颈椎 X 线侧位片(四川大学华西医院放射科),在 X 线片上测量术前、术后及术后 4、8、12 周时 C3/4 节段的 DSH、IVA 及 LA。术后 12 周每组处死 3 只动物,24h 内进行无破坏生物力学测试:取 C3/4 节段,剔除颈部肌肉,保留完整骨骼及韧带。用骨水泥将 C3、C4 与上下两个实验盘固定,用万能力学测试机(四川大学生物力学实验室)进行前屈、后伸、左右侧屈、左右旋转 6 个模式加载,加载大小为 1Nm、2Nm、3Nm 及 4Nm,所得数据进行载荷-应变关系、颈椎刚度及运动范围(ROM)分析。术后 12 周每组处死 2 只动物,取 C3/4 节段及椎间内置物,放入 40g/L 多聚甲醛中保存。用 80%酒精固定并脱水 7d,包埋于有机玻璃中。用 LEICA SP2600 硬组织切片机(四川大学组织工程实验室)切片,HE 染色后行组织形态学观察。

1.4 数据分析

采用 SPSS 11.5 进行统计分析。结果以均数±标准差表示, $P<0.05$ 表示有统计学差异。

2 结果

实验过程中山羊无死亡或脊髓损伤,术后正

常饮食,伤口正常愈合。术前及术后不同时间点各组 DSH、IVA 和 LA 见表 1 和图 4、5。术前各组 DSH、IVA 和 LA 无显著性差异。术后即刻及术后 4 周三组间 DSH 无显著性差异($P>0.05$);术后 8 周及 12 周,A 组 DSH 与 B、C 组有显著性差异($P<0.05$),B 组和 C 组 DSH 无显著性差异($P>0.05$)。B 组及 C 组术后 8 周 DSH 均有降低趋势,C 组更为明显。术后即刻及术后 4 周、8 周三组间 IVA 无显著性差异($P>0.05$);术后 12 周,A、B 组 IVA 与 C 组有显著性差异($P<0.05$)。术后即刻及术后 4 周、8 周三组间 LA 无显著性差异($P>0.05$);术后 12 周,A、B 组 LA 与 C 组有显著性差异($P<0.05$)。

术后 12 周不同载荷下颈椎前屈、后伸、侧屈及扭转角位移见表 2、3。除后伸外,A 组各向稳定性优于 B、C 组($P<0.05$)。不同运动状态下三组的平均刚度和活动范围见表 4。前屈时 B、C 组平均刚度无显著性差异($P>0.05$),均小于 A 组($P<0.05$);后伸时三组间无显著性差异($P>0.05$);侧屈时 A 组与 B、C 组有显著性差异($P<0.05$),B、C 组间无显著性差异($P>0.05$);扭转时 A、B 组与 C 组相比有显著性差异($P<0.05$)。前屈时 B、C 组 ROM 无显著性差异($P>0.05$),均大于 A 组($P<0.05$);后伸时三组无显著性差异($P>0.05$);侧屈

表 1 三组术前及术后不同时间点手术间隙 DSH、IVA 和 LA ($n=5, \bar{x} \pm s$)

	n-HA/PA66 组(A 组)			钛网组(B 组)			三面皮质髂骨组(C 组)		
	DSH(mm)	IVA(°)	LA(°)	DSH(mm)	IVA(°)	LA(°)	DSH(mm)	IVA(°)	LA(°)
术前	3.59±0.48	7.54±1.31	5.96±1.23	3.83±0.54	8.14±1.43	6.24±1.35	3.79±0.45	8.10±1.54	6.01±1.11
术后	5.79±0.54	11.19±1.44	10.39±1.44	5.76±0.66	10.96±1.56	10.16±1.61	5.90±0.74	10.76±1.34	10.20±1.54
术后 4 周	5.77±0.61	10.87±1.41	9.87±1.21	5.14±0.61	10.24±1.34	9.74±1.17	5.27±0.41	10.46±1.39	9.86±1.39
术后 8 周	5.32±0.63	9.85±1.23	8.95±0.93	4.56±0.34 ^①	9.77±1.71	8.83±1.34	4.63±0.37 ^①	9.13±1.07 ^{①②}	7.93±0.97 ^{①②}
术后 12 周	5.23±0.58	9.06±0.98	7.76±0.88	4.38±0.31 ^①	8.96±1.27	7.01±0.31	4.37±0.44 ^①	8.32±0.94 ^{①②}	6.33±0.74 ^{①②}

注:①与同一时间点 A 组比较 $P<0.05$;②与同时点 B 组比较 $P<0.05$

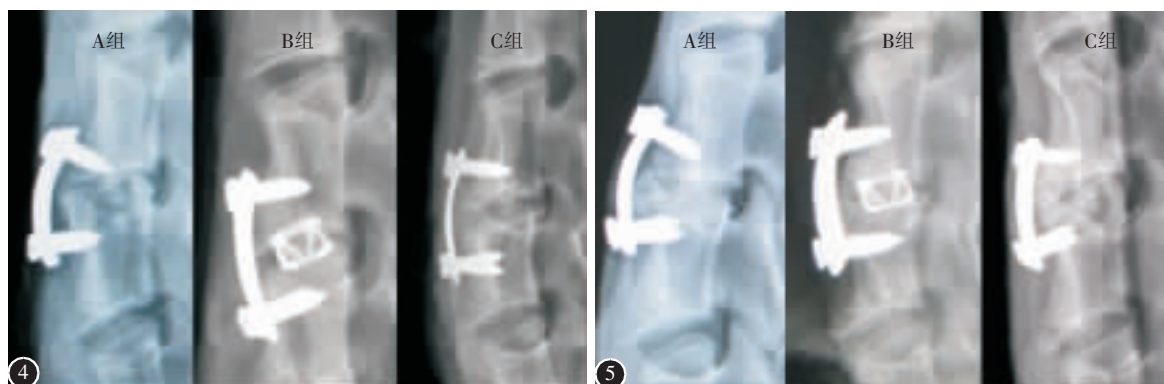


图 4 术后即刻 X 线片上可见 A、B、C 三组椎间高度无明显差异 图 5 术后 12 周 X 线片上可见 A 组椎间高度维持可, B、C 组椎间高度丢失较多,以 C 组最为明显

及扭转时 A 组小于 B、C 组 ($P<0.05$)。

术后 12 周病理组织切片观察, A 组在植骨区和椎间融合器边缘可见大量成熟的骨小梁组织; 材料交界处可见大量纤维骨痂及新生骨形成, 骨组织与材料表面已发生嵌合(图 6a); B 组的植骨块与椎体间的新生骨小梁已改建为成熟的骨小梁, 部分区域尚可见未完全矿化的类骨质(6b); C 组可见较多的纤维骨痂形成, 在骨小梁表面有红色的类骨质, 部分区域有成熟的骨小梁(图 6c)。

3 讨论

目前脊柱前路融合重建的方法包括自体髂骨

或异体骨植骨融合、钛网植骨等, 但是其融合效果及并发症限制了其应用^[8-9]。近年来生物材料椎间融合器成为研究重点。羟基磷灰石以其良好的生物相容性及生物活性被用于硬组织修复^[10]。但是由于其脆性仅被用于非负重部位的修复^[11]。含有 60% 纳米羟基磷灰石的复合物, 其弹性模量和抗压强度分别为 3~10GPa 和 40~90Mpa, 力学特性接近于皮质骨, 使其用于负重部位的修复成为可能^[12,13], 其生物活性研究结果显示该材料植入皮质骨后可以直接与骨连接, 其间可无纤维组织^[14]。目前, 纳米羟基磷灰石/聚酰胺 66 复合物被合成用于骨科负重部位的修复。

本研究影像学结果显示术前及术后 8 周以内

表 2 三组不同载荷下颈椎前屈、后伸时的角位移 ($n=3, \bar{x} \pm s, ^\circ$)

	前屈				后伸			
	1Nm	2Nm	3Nm	4Nm	1Nm	2Nm	3Nm	4Nm
A组	0.85±0.28 ^①	1.04±0.21 ^①	1.76±0.33 ^{①②}	2.06±0.37 ^{①②}	1.05±0.31 ^①	1.35±0.41	2.06±0.23 ^①	2.96±0.47 ^①
B组	1.18±0.27	1.42±0.19	2.04±0.37 ^①	2.46±0.35 ^①	1.38±0.37 ^①	1.40±0.39	1.98±0.47 ^①	3.13±0.31 ^①
C组	1.21±0.24	1.52±0.34	2.31±0.43	3.14±0.51	1.66±0.24	1.56±0.45	3.04±0.19	3.82±0.56

注: ①与 C 组比较 $P<0.05$; ②与 B 组比较 $P<0.05$

表 3 三组不同载荷下颈椎侧屈、扭转时角位移 ($n=3, \bar{x} \pm s, ^\circ$)

	侧屈				扭转			
	1Nm	2Nm	3Nm	4Nm	1Nm	2Nm	3Nm	4Nm
A组	0.95±0.18 ^{①②}	1.22±0.34 ^①	1.66±0.27 ^{①②}	2.06±0.41 ^{①②}	0.65±0.17 ^①	0.96±0.23 ^①	1.41±0.21 ^{①②}	1.89±0.43 ^{①②}
B组	1.60±0.19	1.39±0.44 ^①	1.85±0.37 ^①	2.53±0.21 ^①	0.66±0.19 ^①	1.07±0.34 ^①	1.78±0.41 ^①	2.14±0.35 ^①
C组	1.71±0.34	2.34±0.38	2.51±0.49	3.07±0.64	1.04±0.27	1.43±0.37	2.01±0.39	2.47±0.44

注: ①与 C 组比较 $P<0.05$; ②与 B 组比较 $P<0.05$

表 4 不同运动状态下三组的平均刚度和活动范围 ($n=3, \bar{x} \pm s$)

	刚度(Nm/°)				ROM(°)			
	前屈	后伸	侧屈	扭转	前屈	后伸	侧屈	扭转
A组	2.48±0.35 ^{①②}	1.57±0.19	2.80±0.37 ^{①②}	2.42±0.48 ^{①②}	2.06±0.37 ^①	2.96±0.47	2.06±0.41 ^{①②}	1.89±0.43 ^{①②}
B组	1.67±0.52	1.53±0.37	2.24±0.29	2.07±0.31	2.17±0.52	3.13±0.31	3.13±0.21	2.34±0.35
C组	1.53±0.44	1.38±0.28	2.20±0.37	2.09±0.59	2.26±0.35	3.32±0.56	3.37±0.64	2.47±0.44

注: ①与 C 组比较 $P<0.05$; ②与 B 组比较 $P<0.05$

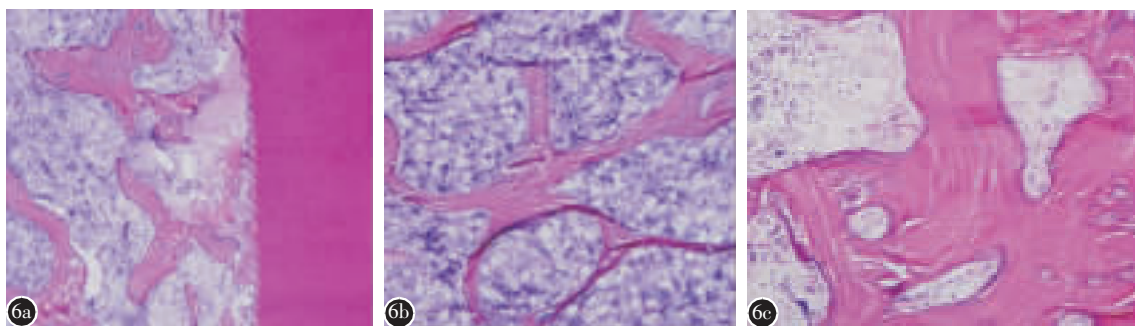


图 6 术后 12 周组织学观察结果 a A 组可见植骨区和椎间融合器边缘有成熟的骨小梁, 交界处可见大量纤维骨痂及新生骨形成, 骨组织与材料表面已发生嵌合 b B 组可见植骨块与椎体间的新生骨小梁已改建为成熟骨小梁, 部分区域可见未完全矿化的类骨质 c C 组可见较多纤维骨痂形成, 在骨小梁表面有红色的类骨质, 部分区域有成熟骨小梁(HE $\times 100$)

各组 DSH、IVA 和 LA 无显著性差异,而在术后 12 周时,各指标出现显著性差异,钛网组及三面皮质骨组 IVA 及 LA 降低明显,同时三面皮质椎间高度丢失明显。这表明钛网及三面皮质骨植入椎间隙后均可提供早期稳定性,后期稳定性逐渐降低。这可能与山羊颈椎术后活动度较大,三面皮质骨承受过多压力导致塌陷有关;钛网由于其较锐利的边缘使融合节段受到过多的切割而同样导致塌陷。n-HA/PA66 椎间融合器既可以提供一定的生物力学强度,同时融合器上下与融合节段的接触面积较大,避免了对上下椎体的切割,因而提供了一个比较好的生物力学环境,促使颈椎融合。

生物力学测试结果显示,除后伸外,n-HA/PA66 椎间融合器组术后 12 周时各向稳定性优于其他两组。这是由于后伸时各组均有前纵韧带的破坏,因而无差别。因此,除后伸外,n-HA/PA66 椎间融合器组的平均刚度亦大于其他两组,ROM 小于钛网组及三面皮质骨组。表明后期 n-HA/PA66 椎间融合器组融合效果好。梁勇等^[5]通过 CT 扫描发现用该材料制备的椎间融合器用于山羊颈椎融合术后 12 及 24 周时可以见到较好的骨性融合,因此有必要进行更长时间的观察。

二期生物力学稳定性依赖于椎间植骨的骨性融合^[16]。研究表明,随着植骨量的增加骨融合的机会也会增加^[17]。为提高融合效果,应尽可能缩小融合器的实质体积以扩大椎间植骨量^[18]。梁勇等^[15]应用该材料制备成椎间融合器并进行了椎间融合的研究。我们设计制备的 n-HA/PA66 椎间融合器参数与之并不相同。他设计的椎间融合器外径为 9mm,内径为 3mm;我们设计的融合器外径 12mm,内径 8mm,并且壁周有 10 个直径 1mm 的小孔,使植骨量明显增加,置入山羊体内后能维持椎间高度、提供足够的生物力学稳定性并使其达到较为满意的椎间融合。本研究结果显示,n-HA/PA66 椎间融合器植入后二期生物力学行为优于钛网和三面皮质骨植骨,为该融合器在临床应用提供了一定的理论依据。

4 参考文献

- Liao JC, Niu CC, Chen WJ, et al. Polyetheretherketone (PEEK) cage filled with cancellous allograft in anterior cervical discectomy and fusion[J]. Int Orthop, 2008, 32(5): 643-648.
- van Jonbergen HP, Spruit M, Anderson PG, et al. Anterior cervical interbody fusion with a titanium box cage: early radiological assessment of fusion and subsidence[J]. Spine J, 2005, 5(6): 645-649.
- Wusiman PI, Smit TH. Bioresorbable polymers: heading for a new generation of spinal cages [J]. Eur Spine J, 2006, 15(2): 133-148.
- 郝勇, 周跃, 滕海军, 等. 聚内消旋乳酸(PDLLA)椎间融合器在椎间降解情况的实验观察[J]. 中国矫形外科杂志, 2006, 13(2): 206-208.
- 孟纯阳, 安洪, 蒋电明, 等. 纳米羟基磷灰石/聚酰胺的细胞相容性研究[J]. 中华创伤骨科杂志, 2005, 7(8): 749-752.
- 王群波, 蒋电明, 李智, 等. 纳米羟基磷灰石/聚酰胺 66 复合人工椎体治疗胸腰椎椎体肿瘤的效果 [J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(3): 263-265.
- 孟纯阳, 安洪, 蒋电明, 等. 新型纳米骨重建和修复材料羟基磷灰石/聚酰胺体内植入的生物相容性及安全性[J]. 中国临床康复, 2004, 8(29): 6330-6333.
- Buttermann GR, Glazer PA, Bradford DS. The use of bone allografts in the spine[J]. Clin Orthop, 1996, 324: 75-85.
- Robertson PA, Rawlinson HJ, Hadlow AT. Radiologic stability of titanium mesh cages for anterior spinal reconstruction following thoracolumbar corpectomy[J]. J Spinal Disord Tech, 2004, 17(1): 44-52.
- Meding JB, Stambough JL. Critical analysis of strut grafts in anterior spinal fusions [J]. J Spinal Disord, 1993, 6(2): 166-174.
- St John KR, Zardiackas LD, Terry RC, et al. Histological and electron microscopic analysis of tissue response to synthetic composite bone graft in the canine[J]. J Appl Biomater, 1995, 6(4): 89-97.
- Wei J, Li YB, He Y. Processing and properties of nano-apatite-polyamide biocomposite [J]. J Mater Sci Lett, 2005, 40: 793-796.
- Wei J, Li YB. Tissue engineering scaffold material of nano-apatite crystals and polyamide composite [J]. Europ Polym J, 2004, 3: 509-515.
- Yang K, Wei J, Wang CY, et al. A study on in vitro and in vivo bioactivity of nano hydroxyapatite/polymer biocomposite [J]. Chinese Science Bulletin, 2007, 52(2): 267-271.
- 梁勇, 蒋电明. 纳米羟基磷灰石/聚酰胺 66 椎间融合器对山羊颈椎的融合效果研究 [J]. 第三军医大学学报, 2007, 29(24): 2333-2335.
- Majd ME, Vadhva M, Holt RT. Anterior cervical reconstruction using titanium cages with anterior plating[J]. Spine, 2003, 24(15): 1604-1610.
- Kim KW, Ha KY, Moon MS, et al. Volumetric change of the graft bone after intertransverse fusion [J]. Spine, 1999, 24(5): 428-433.
- Weiner BK, Fraser RD. Spine update lumbar interbody fusion cages[J]. Spine, 1998, 23(5): 634-640.

(收稿日期: 2009-08-10 修回日期: 2010-02-10)

(英文编审 蒋欣/郭万首)

(本文编辑 卢庆霞)