

# 现代骨移植学

肖建德 主编

科学出版社

北京

## 内 容 简 介

本书介绍了当前国内外骨移植与人工骨的研究进展,系统阐述了自体骨移植、同种异体骨移植、异种骨移植、软骨移植、各种生物材料人工骨、现代骨库的建立及其标准、组织工程化骨与软骨等有关基本理论、基础知识、新技术和新进展;详述了骨诱导理论,各种骨生长因子的提取及其特性,复合人工骨和重组异种骨的基础研究及应用,从而为骨移植与生物材料人工骨的广泛应用奠定了基础。本书还结合骨科临床,介绍了骨移植手术技术和操作要点。适合骨科医生及相关研究人员参考。

### 图书在版编目(CIP)数据

---

现代骨移植学/肖建德主编. —北京:科学出版社,2006.2

ISBN 7-03-016446-6

I. 现… II. 肖… III. 骨-移植术(医学) IV. R687.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 131723 号

---

责任编辑:王 晖 / 责任校对:张 琪

责任印制:刘士平 / 封面设计:黄 超

版权所有,违者必究。未经本社许可,数字图书馆不得使用

**科学出版社** 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

**中国科学院印刷厂** 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2006 年 2 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2006 年 2 月第一次印刷 印张:38

印数:1—2 000 字数:917 000

**定价:98.00 元**

(如有印装质量问题,我社负责调换〈科印〉)

## 《现代骨移植学》编写人员

主 编 肖建德

副主编 王大平 熊建义 阎德文

编 者 (按章节顺序排列)

肖建德 郭岱琦 温广明 徐达传

阎德文 熊建义 胡 波 王大平

张 旗 韩卫东 郝 杰 郑启新

陈 飞 陈 扬 顾洪生 罗新乐

陆 伟 刘建全 刘黎军 杨 雷

江捍平 欧阳侃 张世权 刘浩江

李文翠 朱伟民

# 目 录

## 第一篇 基础篇

第一章 骨移植的发展史 .....	肖建德 郭岱琦(3)
第一节 骨移植的历史变迁 .....	(3)
第二节 骨移植的研究现状 .....	(8)
第二章 骨骼系统解剖学 .....	温广明 徐达传(26)
第一节 骨的形态和结构 .....	(26)
第二节 骨和骨膜的血供 .....	(34)
第三节 骨的发育和生长 .....	(38)
第四节 自体骨移植的应用解剖 .....	(46)
第三章 骨代谢及其调节 .....	阎德文 熊建义 肖建德(81)
第一节 骨的生理功能 .....	(81)
第二节 骨的代谢及调节 .....	(109)
第三节 骨移植的生物力学 .....	(169)
第四章 骨愈合过程的基础理论 .....	胡 波 王大平(178)
第一节 骨折愈合过程分期 .....	(178)
第二节 骨折愈合的标准 .....	(181)
第三节 影响骨折愈合的因素 .....	(183)
第四节 骨折愈合过程中的生化反应 .....	(188)

## 第二篇 骨组织库篇

第五章 骨库的建立 .....	张 旗 韩卫东(197)
第一节 概述 .....	(197)
第二节 骨库的建立与标准 .....	(200)
第三节 骨移植的感染控制 .....	(207)
第六章 骨移植的免疫学基础 .....	郝 杰 郑启新(213)
第一节 骨与软骨的免疫原性 .....	(213)
第二节 骨移植的排斥反应 .....	(218)
第三节 骨移植的分子和细胞生物学 .....	(227)
第四节 骨移植免疫与骨诱导的相互作用 .....	(230)
第七章 移植骨的制备及应用 .....	王大平 陈 飞(234)
第一节 移植骨的取材及处理 .....	(234)

第二节	移植骨的灭菌及保存	.....	(245)
第三节	移植骨的临床应用	.....	(248)
第四节	骨移植的并发症	.....	(253)
第八章	移植骨的生物学特征	..... 陈 飞 熊建义	(264)
第一节	移植骨的修复过程	.....	(264)
第二节	移植骨的生物学特征	.....	(273)
第三节	移植骨的转归	.....	(279)

### 第三篇 骨与软骨移植篇

第九章	自体骨移植	..... 陈 扬 肖建德	(291)
第一节	概述	.....	(291)
第二节	传统的自体骨移植	.....	(292)
第三节	带肌蒂的骨移植	.....	(295)
第四节	带血管蒂的骨移植	.....	(299)
第十章	同种异体骨移植	..... 顾洪生 肖建德	(311)
第一节	同种异体骨的采取与贮存	.....	(311)
第二节	同种异体骨的生物学特点与转归	.....	(315)
第三节	同种异体骨的临床应用	.....	(326)
第十一章	异种骨移植	..... 罗新乐 肖建德	(332)
第一节	异种骨移植的免疫学基础研究	.....	(332)
第二节	异种骨的处理与应用	.....	(336)
第三节	重组异种骨	.....	(338)
第十二章	软骨移植及组织工程化软骨	..... 熊建义 王大平	(342)
第一节	软骨的组织学特性和功能	.....	(342)
第二节	软骨移植的种类及临床应用	.....	(344)
第三节	组织工程化软骨	.....	(347)
第十三章	联合移植	..... 陆 伟 肖建德	(360)
第一节	概述	.....	(360)
第二节	骨关节移植的解剖学基础	.....	(361)
第三节	联合移植的实验与临床应用	.....	(377)
第四节	联合移植的作用与转归	.....	(390)

### 第四篇 人工骨篇

第十四章	人工骨概况	..... 肖建德 刘建全 王大平	(397)
第一节	人工骨的发展史	.....	(397)
第二节	人工骨移植的愈合过程	.....	(403)
第十五章	无机材料人工骨	..... 肖建德 熊建义 阎德文	(405)
第一节	羟基磷灰石人工骨	.....	(405)

第二节	生物陶瓷人工骨	.....	(411)
第三节	生物玻璃人工骨	.....	(417)
第四节	硫酸钙人工骨	.....	(424)
<b>第十六章</b>	<b>有机材料人工骨</b>	..... 刘黎军 肖建德	(428)
第一节	胶原复合骨修复材料	.....	(428)
第二节	生物有机高分子复合骨修复材料	.....	(429)
第三节	骨生长因子	.....	(431)
<b>第十七章</b>	<b>复合材料人工骨</b>	..... 肖建德 杨雷 王大平	(440)
第一节	磷酸钙复合人工骨	.....	(440)
第二节	聚合物复合人工骨	.....	(448)
第三节	红骨髓复合人工骨	.....	(452)
第四节	其他种类的复合人工骨	.....	(457)
<b>第十八章</b>	<b>骨组织工程</b>	..... 肖建德 熊建义 阎德文	(468)
第一节	概述	.....	(468)
第二节	种子细胞	.....	(469)
第三节	基质材料的研究	.....	(473)
第四节	骨组织工程材料的表面修饰和细胞黏附	.....	(480)
第五节	骨组织工程中的细胞培养体系	.....	(485)
第六节	血管化在骨组织工程中的应用研究	.....	(488)
<b>第十九章</b>	<b>纳米人工骨</b>	..... 肖建德 王大平 江捍平	(493)
第一节	纳米陶瓷人工骨	.....	(493)
第二节	纳米羟基磷灰石人工骨	.....	(499)
第三节	纳米复合人工骨	.....	(504)
<b>第五篇 手 术 篇</b>			
<b>第二十章</b>	<b>骨移植手术</b>	..... 肖建德 王大平 欧阳侃	(511)
第一节	自体骨移植手术	.....	(511)
第二节	异体骨移植的手术技术	.....	(534)
第三节	人工骨移植手术	.....	(539)
<b>第二十一章</b>	<b>软骨移植手术</b>	..... 张世权 肖建德	(545)
第一节	骨膜和软骨膜移植修复软骨缺损	.....	(545)
第二节	软骨细胞移植	.....	(548)
第三节	自体或异体软骨移植	.....	(556)
<b>第二十二章</b>	<b>关节移植手术</b>	..... 刘浩江 肖建德	(560)
第一节	吻合血管的自体关节移植	.....	(560)
第二节	同种异体关节移植	.....	(564)
第三节	异种骨关节移植	.....	(574)

第二十三章 骨移植康复及护理 .....	李文翠 王大平 朱伟民(580)
第一节 概述 .....	(580)
第二节 骨移植康复的基本问题 .....	(580)
第三节 骨移植康复治疗的分期 .....	(582)
第四节 肌力训练的主要方法 .....	(584)
第五节 改善关节活动度的练习方法 .....	(587)
第六节 骨移植后上、下肢功能康复的主要目标及方法 .....	(588)
第七节 恶性骨肿瘤骨移植康复的特殊性 .....	(591)
第八节 骨移植的康复护理 .....	(592)
索引 .....	(597)

# 第一篇

## 基础篇

# 第一章 骨移植的发展史

## 第一节 骨移植的历史变迁

骨移植是指用手术方法将各种骨组织或材料移植到人体内骨骼缺损、需要加强或融合的部位,是目前骨科临床上广泛应用的一种手术方法。随着现代社会交通发展和诊疗水平条件的提高,因创伤、肿瘤或骨病等原因造成骨缺损的病人越来越多,据统计,我国每年仅因肿瘤手术切除需要进行骨修复的病例就达 25 万左右。骨移植一直是人类几个世纪以来不断深入研究和探索的重要课题,直到今日,对采用何种材料、以何种方式进行骨移植,植入材料的生物学活性、生物相容性、生物可降解性以及力学性能等问题仍需进一步深入研究,临床上对大范围骨缺损的治疗仍是医学上的一个难题。本篇就骨移植发展历史以及近几年来对骨移植研究的进展进行介绍。

### 一、骨移植术发展过程

#### (一) 骨移植的进展

骨移植有着悠久的历史,古代我国民间已经流传“柳枝接骨”。国外在 16 世纪时,就有人开始不断尝试用一些材料如金、银等金属材料和牛骨、象骨、玻璃等非金属材料进行人体内骨质固定和骨缺损的填补。1668 年,荷兰医生 J van Meekeren 从狗身上取部分颅骨移植到一位因外伤引起颅骨缺损的战士身上,但在当时这种行为违背西方宗教教义,该战士在社会到处受排斥,因此其只能要求医生将骨块去除,以便他能恢复到教堂的权利,而当医生再次手术时发现移植骨已经愈合。虽然这些都没有很明确的资料记载,但却反映人类对骨移植的设想和尝试。1674 年,荷兰科学家 Leeuwenhoek 利用发明的显微镜对骨组织进行了最初的观察。1684 年,Heyde 对蛙的骨折愈合过程进行了研究,认为骨痂是由骨折端血凝块钙化而成的。1739 年,Duhamel 将银丝植于骨膜下,数月后银丝被骨包埋,他认为这是由于骨膜成骨所造成的。1820 年,德国人 Walter 在一例颅脑手术中将切除的颅骨放回原位,完成首例自体骨移植。1836 年,Heine 通过切除肋骨,但保留肋骨骨膜,发现肋骨可重新长出,证实骨膜具有成骨能力。1842 年,Fluorens 进一步证实骨膜的成骨作用,并认为骨膜细胞在骨缺损修复过程中起重要作用。1867 年,法国人 Ollier 对兔和幼狗进行深入细致的实验研究,认为不带骨膜的独立的自体骨块能够在适宜的环境中存活并长期生长,从理论上提出骨移植的可行性。因此,有认为 Ollier 是现代骨移植技术的首创者。1893 年,Barth 认为新鲜骨移植物的细胞均要坏死,移植骨未经吸收就被宿主来源的新骨所替代,并将这一过程称为“爬行替代”。1907 年,Axhausen 认为移植骨除骨膜细胞外其他细胞成分

均坏死,移植骨的修复依赖于宿主骨膜、骨内膜、骨髓及周围结缔组织的侵入,侵入移植骨的间充质细胞先转变为破骨细胞,吸收旧骨,而后转变为成骨细胞,产生新骨,他引用了“爬行替代”这一术语。以上科学研究为骨移植的临床应用奠定了基础。在骨移植中,由于自体骨移植成活率高,疗效也确切,在临床上得到广泛应用,但却面临资源的限制,同时也增加病人的痛苦。因此,为括大骨移植的资源,医学家们进行不断尝试。1880年,苏格兰医生 Willen Macewen 从一病人取一段胫骨,用于治疗一位4岁儿童因顽固性骨髓炎导致的骨缺损,在15个月中分三期进行植骨取得满意效果,并于1881年在《伦敦皇家学会记录》(Proceeding of the Royal of Society London)上发表了文章,这也是首例同种异体骨移植。在此之后,不断有这方面的尝试。1908年,Lexer 首先报道实行同种异体骨移植的临床经验,1915年,美国人 Albee 出版《骨移植外科》,骨移植日益被研究和采用。Lexer 到1925年对因创伤或肿瘤造成膝关节损伤或缺损的病人施行同种异体全关节或同种异体半关节移植,共34例,术后随访,发现50%的病例膝关节功能良好。由于缺乏储藏同种异体的有效方法,在很长一段时间同种异体骨移植的临床应用和研究受到极大限制,虽然有很多医生进行同类的骨移植术,但成功的例数很少,直到1941年 Inclan 对骨的保存方法进行研究,并提出骨库的概念,同种异体骨移植的研究和应用才日益活跃。骨库的建立使同种异体骨移植的临床应用更加方便、安全,临床应用范围也进一步扩大,至此,骨移植研究有了很大突破。

到20世纪50年代,各发达国家纷纷建立骨库,临床应用的飞速发展,基础实验研究也不断进行,由于同种异体骨移植失败率在10%~50%之间,因此人们对此原因做了大量探讨。1951年,Herdsen、Curtiss、Chase 及其合作者发表了一系列研究报告,证实由于免疫排斥反应的存在导致一些手术失败,同时他们也提出通过低温冷冻异体骨来代替新鲜的异体骨,以减少免疫反应的发生率。Bonfiglio 在1955年最先较为系统地研究了骨移植中的免疫反应,Chalmer 在1959年和 Burwell 在1962年也分别对此做出较清晰的论述。自此,异体骨移植的免疫反应性的理论已较为全面、系统、明确。同时,Burwell 等也证实新鲜同种异体骨移植的主要抗原刺激来自骨髓,由于骨髓中含有造血系细胞、内皮细胞、树突状细胞、巨噬细胞等,它们都有MHC-II类抗原的表达,都可能成为抗原的呈递细胞(APC),可以诱导局部免疫反应。但后来发现,去除骨髓也不能消除同种异体骨的抗原性。Skjod 等证实,成骨细胞也有MHC-II类抗原表达。在 $\gamma$ -干扰素的存在情况下,MHC-II类抗原表达也能增强。但在组织学上难以区分非特异性炎症反应和特异性免疫反应,一些学者用二次移植排斥反应(second-set rection)的方式来衡量骨移植的免疫原性。Burwell 用引流植骨部位的淋巴结的组织学和重量的变化来评价骨的免疫原性,也得出同样的结论。

1979~1983年,Halloran 等进行了一系列小鼠动物模型实验,对小鼠胫骨中段进行骨移植加髓内针固定术,评价移植物生物学和免疫学特征的主要参数是受体动物同种异体抗体反应、移植物抗张力强度、组织学改变等。结果提出如下观点:①同基因骨移植的骨愈合较异体骨移植好。②新鲜异体骨诱发H-2和非H-2的同种异体抗体反应。③去除骨髓后移植物仍保留抗原性,可能是骨膜内仍残留有骨髓岛。④用低温冷冻和射线照射可使异体骨诱发免疫反应的能力减低。⑤免疫抑制剂对骨移植的愈合有害。⑥骨移植中免疫活性细胞为骨髓源性细胞。

## (二) 减低移植骨免疫原性的研究

免疫原的确切性质和来源尚未阐明,而与此同时如何使免疫原性减低也是医学集中研究的问题。综合各种研究,人们对减低免疫原性的方法主要集中如下:

### 1. 冷冻及低温冻干法

低温冷冻是一种较早应用的减低免疫原性的方法,Krenz等最早观察和比较新鲜异体骨、冷冻及冻干异体骨移植后的愈合过程,结果表明,冻干骨皮质和受体骨结合所需要的时间比自体植骨稍长,但优于冷冻骨皮质。Burwell也报道快速冷冻可以降低移植物的抗原性,Bonfiglio等发现,冷冻异体骨所引起的局部组织反应和血清学反应较新鲜异体骨明显降低。Elves在1974年通过实验表明:低温冷冻可以减弱或消除同种异体骨移植中的体液免疫。随后10年的大量资料也支持这一观点:低温或冻干的异体骨免疫原性减低,其最可能的原因是在移植中残留的抗原呈递细胞由于低温或冻干而破坏。但其机制也没有完全阐明。Elves认为主要是缺乏活细胞,Darcy认为冻干过程物理上改变了抗原,因而破坏了它们的免疫原性。

### 2. 脱钙法

1889年,Senn通过脱钙骨填充骨髓炎性骨缺损并获得成功,人们开始对骨脱钙进行研究。1965年,Urist有力证明了盐酸脱钙骨基质具有很强的诱导成骨能力。此后,大量的动物实验和临床应用资料表明,脱钙骨具有较强的骨诱导力,可以诱导血管周围未分化间充质细胞及骨髓基质细胞向成软骨细胞和成骨细胞分化。后来发现,骨基质中含有某种能诱导成骨的生物活性物质,称之为骨形态发生蛋白,简称BMP。由于骨组织中的钙盐能阻碍BMP的作用,所以脱钙移植骨的骨诱导力比非脱钙骨要强。而关于脱钙对异体骨免疫原性的影响也一直是从事组织形态学的角度去观察,尚缺乏系统、灵敏的免疫学方法的研究。Brooks等用二次皮肤排斥实验证明,异体脱钙骨和新鲜异体骨具有同样的免疫原性。Urist报道,异体脱钙骨基质移植后可见少量炎症细胞浸润,如果结合冻干后再移植则无此现象。Narang和Tuli等观察到异体脱钙骨移植后不引起排斥反应,因此认为脱钙能降低异体骨的免疫原性。

### 3. 煮沸、辐射、脱蛋白及硫柳汞处理

Burwell等曾报道煮沸可以破坏骨内的抗原,但煮沸骨由于加热原因使蛋白质变性,中央管(哈弗斯管)发生凝固而破坏骨诱导能力,使其很难被宿主骨附和。放射性照射能破坏骨的抗原,但同时也降低移植骨的诱导力。脱蛋白骨由于蛋白质大部分被除去,其抗原性明显降低但骨诱导力也完全丧失。用硫柳汞处理的骨移植,实验结果和临床观察表明其失败率高出自体骨移植的3倍;Bonfiglio也报道用硫柳汞处理的骨移植几乎不诱发成骨和骨痂的形成。由于以上方法严重影响成骨诱导活性,因此在发展过程中逐渐被淘汰,目前已经很少应用。

#### 4. 抗原提取法

这是由 Urist 等设计的一种新的异体骨处理方法,先将异体骨用氯仿甲醇液(1:1)脱脂和提取细胞膜上的移植抗原,然后用盐酸脱钙,在中性磷酸缓冲液中孵育,以激活内源性酶系统进行抗原的自身消化和提取,缓冲液中加入巯基蛋白酶可抑制 BMP 酶,使 BMP 免受破坏,最后经冻干和灭菌处理。按此方法处理的异体骨称为 AAA 骨。Urist 报道了 76 例用 AAA 骨作为移植骨进行腰椎横突间融合,总优良率为 80%,假关节率为 12%;58 例用自体骨做腰椎横突间融合植骨,假关节率为 8%,两组假关节率比较差别不大,认为 AAA 骨既去除抗原性又保留诱导成骨能力。

#### 5. 组织配型

组织配型用来使供体和受体的组织相容性特征相匹配,从而使移植抗原不被受体免疫系统当作“非自身的”来识别。Hallorand 等的实验研究结果表明,小鼠之间新鲜异体骨移植,组织相容特征越大,效果越差。Bos 等证实,新鲜异体骨的移植经弱的组织移植屏障比强的组织移植屏障容易被受体接受。但组织配型和异体骨移植的最终结果的关系还未完全阐明,还有组织配型的技术要求较高,目前临床意义不大。

#### 6. 免疫抑制剂

一些学者正在探索免疫抑制剂的应用。Burchardt 认为,骨移植后的爬行替代过程中骨单位被修复,而间骨板被隔离,随后的塑形也发生在骨单位而不是在已隔离的间骨板中。在免疫抑制状态下,移植抗原将通过爬行替代或骨移植细胞的自溶而被排除,一旦新骨形成,残存的异体骨被隔离,它们不再引起受体的免疫反应。Burchardt 等还观察到,使用硫唑嘌呤来暂时抑制移植新鲜异体腓骨的狗的免疫反应,可明显改善修复过程,异体骨取代和自体骨相似。虽然动物实验研究的结果表明免疫抑制法可以成功抑制异体骨移植的免疫反应,但其严重的毒副作用不允许常规应用在人体异体骨移植过程。

### (三) 骨移植作用的机制

随着对骨生理学、生物化学、免疫学等方面认识的加深,人们对骨移植发生机制也逐渐有了认识,对于骨移植都是通过以下一种或几种机制达到植骨的目的:

#### 1. 骨传导

德国人 Barth 与美国人 Curtis 在 19 世纪 90 年代,通过各自的实验研究认为植骨后的生长过程是靠受主周围组织长入植入骨内,同时形成新骨。1907 年, Axhausen 明确提出爬行替代(creeping substitution)理论,认为植入骨主要起支架作用,由周围机化组织不断长入,一方面噬骨细胞顺骨基质逐渐挺进,把骨块逐渐催毁而吞噬掉;另一方面,成骨细胞紧紧跟进,生成新的骨基质,逐渐钙化或骨化,最终将植骨块完全消灭而代之以新的、有生命的骨组织。

## 2. 成骨诱导

成骨诱导(bone induction)的提出虽然有近百年,但真正有突破性进展也是近十几年的事。1934年,Levander用胚胎诱导细胞转化理论较详尽地提出成骨诱导学说,他将骨的乙醇提取液注入肌肉内,诱导了该处肌肉发生异位骨化,可惜受权威Axhausen反对,使研究进展至少推迟10年。直到1952年以后,Urist和他的同事们才取得实质性突破。他们把骨块、骨痂和脱钙骨基质(DBM)等放在眼前房、肌肉组织内,产生异位骨化,从而证实植入骨内含有一种物质能起成骨诱导作用,可促使受者间质细胞转化为成骨细胞,在骨科界引起震动。Urist把该物质定名为骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP),以后又经过20年的努力,才在牛骨中提取到较纯的BMP,应用到临床得到较大进展,并对其生化性质有了进一步了解。据研究,BMP在牛骨中的含量仅有百万分之一。因此,人们致力于BMP的提取和应用的研究,但目前只是研究阶段,距临床推广应用还有一段距离。

## 3. 成骨细胞

移植骨是否提供细胞来源,长期以来争论不休,大部分认为移植骨细胞是不起重要作用的。1955年,Chase和Hernaon根据850多篇文章,将骨移植的研究做了详细的综述,认为骨移植后经过死而复生的过程,移植骨的再生主要依靠受主结缔组织化生而来,骨细胞将坏死。但出现了吻合血管的骨移植后,移植后骨块内骨细胞能保持存活,使修复过程类似骨折愈合过程。

# 二、骨移植材料的发展过程

人工骨移植材料发展是经过长期探索和漫长实践的一个过程,遵循实践—认识—再实践—再认识的规律。如今,人们可以通过合成或提取的方法制作人工骨移植材料,技术和条件都比较成熟。但随着科学发展,人工骨移植材料技术将不断深入。综观其发展史分述如下:

(1) 人们最早使用的骨移植材料是用天然的材料,如金、银等金属材料和牛骨、象骨、玻璃等非金属材料,这也是人工骨材料移植的启蒙阶段。

(2) 在19世纪,由于冶金、陶瓷工业技术的发展,带动了人工骨材料研究的进一步发展,当时的材料和技术的不佳,必然造成炎性吸收、组织坏死最终导致失败,但这是人工骨材料自然发展时期。

(3) 20世纪的30、40年代,铝铬合金、有机玻璃、钛合金、高分子材料相继应用在医学领域中,很大推动了人工骨移植材料的发展,但这些材料也存在一些不足的地方如:①移植植物不能很好与宿主紧密结合。②植入物周围出现急、慢性炎症。③金属材料会引起金属离子的释放。④高分子材料也会出现老化、破碎和释放有毒物质。

(4) 20世纪70年代,材料科学迅速发展,出现一些新材料如玻璃陶瓷、热解碳、高致密度多晶氧化铝、生物玻璃陶瓷等,人工骨材料的研究又进一步得到提高。

(5) 20世纪80年代,出现以磷酸钙盐为中心的生物活性材料。随着科技的发展,人们

认识到自体骨的化学成分是羟基磷灰石(hydroxylapatite, HA),异种骨和异体骨在脱蛋白后剩下的无机矿物质也是羟基磷灰石,羟基磷灰石生物活性材料研究和应用应运而生。通过羟基磷灰石和其他材料复合,克服 HA 本身存在的一些弱点,从而制作出一系列新型的人工骨材料,在临床上也被广泛应用。

(6) 红骨髓的应用:此方法在 1951 年由 Herzog 首先使用,到 80 年代,在临床得到一定范围的应用,通过自体红骨髓和自体骨、异体骨和生物陶瓷材料复合应用,取得良好效果。

(7) 20 世纪 90 年代,随着人们对骨成分的研究深入,出现以骨胶原作为骨传导材料。

(8) rhBMP。

(9) 纳米多孔高强度磷酸钙人工骨细胞爬行支架材料。

(10) 聚乳酸类骨材料。

### 三、骨移植术在显微外科的发展过程

显微骨移植是指显微外科技术在骨移植中的应用。早在 1893 年,Curtis 提出移植“活骨块”的设想,他希望所植入的骨块具有血液供应,不必等待血液循环的重新建立。虽然早有这样的设想和实践,但直到 20 世纪 60 年代美国人 Jaconbon 和 Suarez 提出显微外科的使用价值,并在临床进行实践,1966 年我国陈中伟教授等首次施行断肢再植并获得成功,才使显微外科技术更加成熟、应用范围更加广阔。1973 年,Macallough 等首先在动物实验中用吻合血管的肋骨移植修复下颌骨,在显微镜下通过手术吻合肋间和下颌血管,使移植骨有良好的血运。随后,在 1974 年 Taylor 首先报道应用吻合血管的腓骨游离移植治疗胫骨缺损获得成功,1975 年 Buncke 用吻合血管的肋骨皮瓣移植治疗一例外伤性胫骨缺损及局部皮肤瘢痕的病人,术后 5 个月该病人因踢足球造成植骨片骨折,再次手术证明移植骨端和正常骨的愈合良好,显微骨移植得到广泛应用和发展。

由于吻合血管的骨移植在手术中建立植入骨的血循环,骨细胞保持存活,使骨移植的愈合过程转化为一般骨折的愈合过程,打破骨移植后再生的规律,使骨移植技术进入一个新的阶段。但在临床实际应用中,由于显微骨移植可供选择的区域为数不多,因此只能多采用吻合血管的游离骨、骨膜瓣移植,以满足四肢各个部位骨病缺损区的修复。而游离组织瓣移植由于难度大、手术创伤大以及设备限制等不足之处,使其开展受到一定限制。但经过医学工作者多年努力,目前出现一批新的骨、骨膜瓣供区和新的手术方式。而且,这些成果大多是由我国学者开拓或创用的。

## 第二节 骨移植的研究现状

骨移植术经过近百年的发展,目前对其研究已经比较深入和全面,一些研究也取得令人瞩目的成果。尤其在分子水平研究的提高使在骨移植愈合机制和抗原性机制的研究方面取得很大进步。现就自体骨移植、同种异体骨移植、异种骨移植、人工骨移植等四个方面进行论述。

## 一、自体骨移植

自体骨因兼有骨诱导活性和骨传导作用,且携有具成骨作用之骨髓细胞,可以提供一些活的骨细胞。许多权威人士一致认为,这些细胞的主要来源包括植骨受区骨表面的成骨细胞、骨髓细胞、受区的软组织,以及血中循环的游离成分。某些表面细胞和在陷窝中的骨细胞(陷窝最深 $0.30\text{mm}$ )是成活的,对早期形成的血管能够长入初期网质骨支架中起着极其重要的作用。成骨性细胞的其他来源包括植骨骨内膜和骨膜的生骨层,以骨松质最多,细胞存活时间也较长,成骨效果最好,故目前仍奉为“金标准”。临床上自体骨多采自髂骨、胫骨和腓骨,分别提供骨松质、骨皮质和全骨。

(1) 非血管化自体移植骨因缺乏血供,大多数细胞死亡,仅表面 $0.1\sim 0.3\text{mm}$ 范围的少数细胞依赖受区组织液的弥散得以存活。移植骨内的骨原细胞主要来自骨膜和骨髓,故骨松质之成骨能力大于骨皮质。骨松质血运重建较快,早期以成骨活动占优势,死骨逐渐进行内部改建,被破骨细胞吸收,继之新骨内有红骨髓聚集,移植骨于是完全被新骨取代。骨松质常用于对移植骨强度无特殊要求时,可采取骨松质碎骨、全厚骨松质、髂骨外板和包括两侧骨皮质的髂嵴长条。常用的植骨方法有外周薄片植骨、嵌入植骨、骨腔内充填骨和脊柱融合植骨术等。骨皮质血运重建较晚,早期有活跃的破骨活动,破骨活动和成骨活动交替进行,逐渐完成移植骨的修复。骨皮质适于提供功能性支持,胫骨、腓骨、股骨、桡骨和肋骨均可供骨,一般在胫骨内侧面取骨。常用的植骨方法有单侧上盖植骨术、双侧上盖植骨术、钢板加单侧上盖植骨术、嵌入植骨术和骨钉植骨术。全骨移植骨通常取腓骨的中 $1/3$ 段或上 $1/2$ 段,用于修复儿童长骨如尺、桡骨缺损。

(2) 血管化自体移植骨因带有自身的血供系统,不会发生骨坏死和吸收,只需与受区骨发生愈合,其修复过程类似新鲜骨折,无需经过爬行替代。移植骨血供可来自肌蒂或吻合血管。行带肌蒂骨瓣移植时,保留移植骨的肌肉附着部及骨膜,移植骨通过肌蒂滋养血管或知名血管供血。常用的有股方肌蒂骨瓣移植术、缝匠肌股直肌蒂骨瓣移植术、带肌蒂腓骨段转移术和带肌蒂骨皮质片移植术。带血管自体骨移植适用于受骨床瘢痕多、局部循环差或常规植骨不易愈合时。带血管复合骨肌皮瓣移植可对皮肤、肌肉和骨复合缺损一次进行修复。常用方法有带血管髂骨游离移植、带血管腓骨游离移植和带血管肋骨游离移植,所用血管需要有足够的长度和管径,起源及位置较恒定。

## 二、同种异体骨移植

### (一) 同种异体骨移植愈合过程

同种异体骨移植愈合过程是移植骨再血管化、新骨形成、宿主骨床与移植物连接而实现骨掺入过程。同种异体骨移植在宿主的愈合过程与自体骨移植有许多不同,主要表现为同种异体移植骨的成骨与血管穿入的速度和程度都不及自体骨,而同种异体移植骨更易被吸收。新鲜同种异体骨移植的早期宿主反应与自体骨移植类似,移植术后1周在同种异体

移植骨周围发生明显的炎症反应,第2周时炎症反应达高峰,淋巴细胞为主要的浸润细胞,此后2个月淋巴细胞仍为主要浸润细胞,在移植骨周围有炎性纤维包膜形成,炎症反应因移植骨抗原性的差异而渐渐减轻,或持续至8个月以上。早期同种异体移植骨周围血管再生与自体骨类似,但端-端吻合形式的再生少见,移植1周末炎性细胞包绕再生血管,血管壁出现透明变性,管腔闭锁,移植骨存活细胞进行性坏死。新鲜同种异体骨移植早期,移植骨周边存活细胞可产生类似自体骨的成骨现象,但由于再生血管的闭锁和炎性细胞浸润,导致这种初期成骨被吸收。在移植后4周左右,宿主来源的组织侵入移植骨,发生二期成骨,但这种成骨的速度和成骨量远不及新鲜自体移植骨。冷冻、冻干等处理的同种异体骨,已几乎没有存活细胞,故移植至宿主后不产生早期的自身成骨,而完全依靠宿主组织侵入后发生二期成骨。

Burchardt认为,同种异体骨移植与宿主的愈合主要受移植骨抗原性影响,他根据动物同种异体腓骨移植实验,将移植骨与宿主的愈合分为三型:

I型:愈合过程与自体骨移植相似,没有疲劳骨折,移植16周后移植骨与宿主骨连接,移植骨的成骨量、塑形均与自体骨移植接近,提示供体与宿主的组织相容性抗原差异很小或没有差异。

II型:愈合过程缓慢,表现为:①较多发生不连接或延迟连接。②移植骨周边被吸收或移植骨体积变小。③移植骨内部被吸收范围扩大,延伸至间质板层。④移植骨机械强度明显下降,提示供者与宿主组织相容性抗原有较大差异。

III型:没有修复征象,移植骨迅速被吸收,提示供者与宿主之间存在着强烈的组织相容性抗原差异。

各种消除抗原处理可以改善同种异体骨移植与宿主的愈合。Heiple的实验表明,新鲜自体骨移植与宿主骨的愈合最优,同种异体骨移植与宿主骨愈合的优劣次序为冻干骨>冷冻骨>脱矿骨>冷冻+照射骨>冻干+照射骨>新鲜骨>脱蛋白骨。

## (二) 同种异体骨移植愈合机制

同种异体骨移植愈合机制主要依靠骨诱导、骨传导和自身成骨作用。

### 1. 骨诱导

骨诱导是通过诱导因子,使移植部位的间叶组织形成新骨。这些诱导因子中最重要的是骨形态发生蛋白(BMP),它是存在于骨基质中的一组低分子酸性糖蛋白。BMP可以诱导结缔组织中间充质细胞、骨髓基质细胞、滑膜细胞、成纤维细胞呈现软骨细胞和骨细胞的表型。而诱导成骨必须有三个条件,即诱导刺激物、间充质细胞、有利骨生长的血液供应环境。BMP的靶细胞是血管周围的、游走的、未分化的间充质细胞,首先是增补向骨原细胞分化的间充质细胞刺激骨原细胞成熟为骨系细胞;再由骨衍生性生长因子(bone derived growth factor)刺激这些细胞的有丝分裂形成大量新骨,同时BMP还能激发肌母细胞转化为骨系细胞。但是,不同种属诱导成骨活性和宿主对诱导成骨物质的反应有明显的差别,兔和鼠的骨诱导现象明显强于犬和灵长动物。Aspenberg等将猴的脱钙骨基

质(DBM)埋入大鼠肌肉中,6周后有明显的诱导成骨或软骨,而同时植入猴子的DBM却未见新骨形成;通过利用DBM和重组人骨形态蛋白-2(rhBMP-2)复合,提高BMP的浓度,植入猴子肌肉中可见明显的骨诱导。因此,高等动物需要高浓度BMP才能异位诱导成骨。

## 2. 骨传导

骨传导是支架作用,也是以往所说的爬行,是移植物周围组织床的血管、骨原细胞沿植入物的机械引导侵入其内部的过程,通常是由周围到中央,由中央管向其四周逐渐爬行替代。这种骨传导的发生取决于受区的新骨长入。新生血管和新骨除长入生物性结构的移人物外,还可以长入非生物性结构。骨传导作用仅见于移植物植入骨骼系统内,若将无活性的植入物(无自身成骨作用和骨诱导活性)植入骨骼系统以外,仅能引起纤维组织替代,形成瘢痕。Nielsen在兔的双侧桡骨造成1cm的骨和骨膜缺损,在一侧用聚氨脂膜卷成管状,桥接骨缺损;对侧骨缺损不处理,作为对照。术后5周植聚氨脂膜组膜外来自两端的骨痂会师,并有骨膜形成,而对照组发生骨不连接,这个实验显示了骨传导作用的重要性。

## 3. 自身成骨作用

新鲜同种异体骨移植,其移植骨存活细胞具有早期成骨能力,但因免疫排异反应,移植骨中供体来源的细胞被杀死,早期成骨被吸收,因此新鲜同种异体骨的自身成骨作用是无效的。库存同种异体骨的细胞成分多已死亡,也就不具有自身成骨能力。McGaw和Harbin早在1934年就证明骨髓具有成骨作用。Gray和Elves的研究表明,自体骨移植成骨作用60%以上来自骨髓和骨内膜,30%来自骨膜,10%来自骨基质对局部组织的诱导。骨髓中含有定向成骨前体细胞和可诱导的成骨前体细胞,如将宿主骨髓与同种异体骨复合后移植,移植骨可获得早期成骨能力。

### (三) 同种异体骨移植抗原性的机制

同种异体骨移植主要的抗原来自主要组织相容性复合物(MHC)决定的细胞表面糖蛋白,它受MHC基因的控制,在人类为人白细胞抗原(HLA)基因。MHC编码抗原可分为两型,MHC-I(移植抗原)和MHC-II(Ia类抗原),其中MHC-I限制细胞免疫反应中细胞毒性T细胞的杀伤作用,MHC-II在辅助性T细胞的激活中起作用,MHC配型和同种异体骨移植的生物学行为有紧密的关系。MHC-I类和MHC-II类抗原均在骨髓细胞表达。骨细胞和成骨细胞也表达这两类抗原。破骨细胞表达MHC-I类抗原。上述细胞是骨移植免疫反应中主要的抗原来源,除此之外,还有一类由体细胞基因编码的次要组织相容性抗原,如血型抗原、组织特异性抗原、同工酶等。虽然它们在骨移植中不起决定作用,但对MHC相配的移植骨的长期生物学行为却有很重要的作用。

同种异体骨移植后的免疫反应,主要是细胞介导的免疫(cell-mediated immunity, CMI)。B淋巴细胞与T淋巴细胞是CMI介质,这两种细胞的功能、细胞膜抗原、再循环率

以及它们在淋巴组织内的部位,均有明显差别。CMI 过程甚为复杂,主要是细胞的 MHC 抗原片段由宿主抗原呈递细胞(APC)摄取、加工、处理,通过间接途径呈递给宿主 T 淋巴细胞,引起免疫应答,导致慢性排斥反应或免疫耐受反应。在同种异体骨移植中,也有体液免疫反应参与,抗体可以通过补体依赖性反应来破坏靶细胞。同种异体骨移植后,通过辅助细胞对抗原摄取、处理和呈递,从而导致活化、增殖和分化,最终产生细胞和体液免疫,这就是同种异体骨移植的免疫反应的基本过程。

在免疫排斥反应中,细胞和抗体均能介导细胞毒作用。细胞介导的细胞毒作用在免疫排斥反应中占主要作用,它是由  $CD8^+$  细胞毒性 T 淋巴细胞( $T_c$ )介导的。 $T_c$  细胞抗原受体( $T_cR$ )与靶细胞表面抗原 MHC-I 类分子复合物结合,从而活化并释放溶细胞介质,导致靶细胞溶解破坏。同种异体骨移植可诱导产生移植物特异性抗体,大块植骨尤其如此。无论是 MHC 编码抗原还是非 MHC 编码抗原,均能诱导抗移植物抗体的产生。有人认为, MHC 抗原差异越大,抗原移植物的抗体反应也越大,而移植物愈合也越差。

同种异体骨移植后,主要的免疫排斥现象一般是在移植骨区,表现为局部淋巴浸润,起初围绕血管周围,后来逐渐向移植骨浸润。同时,移植物血管增厚、闭塞、血管长入迟缓、毛细血管玻璃样变、胶原纤维排列紊乱,新骨形成减少,最终导致植骨愈合缓慢、植骨疲劳骨折以及植骨疏松、吸收。

#### (四) 同种异体骨移植抗原性处理

对于减低同种异体骨移植免疫排斥,可以通过对移植抗原的处理、供体和宿主组织配型和宿主的免疫抑制等三种基本途径来实现。

##### 1. 移植抗原的处理

尽量去处或杀死移植骨内的细胞成分,以减弱其抗原性。尽量彻底去处移植骨的骨髓、骨膜,反复洗涤是简单有效的去处抗原方法,但由于机械方法不可能完全去处移植骨的细胞成分,目前通过低温冷冻、冻干、脱矿处理进一步减弱同种异体骨的抗原性。

##### 2. 供体和宿主组织配型

采用 MHC 组织配型的目的是减少供体和宿主的组织不相容性,从而提高同种异体骨移植的成功率。Stevenson 利用小犬研究表明,骨松质的骨小梁厚度在相容供体和不相容供体间无明显差别,但成骨表面积在相容供体明显大于不相容供体,不相容供体同种异体骨的成骨面积和新骨的沉积在经深度冷冻后优于新鲜骨,但都低于相容供体的同种异体骨和自体骨。后来利用大鼠研究发现,高度不合组供体特异性的细胞毒性抗体为阳性,而同基因组和低度不合组为阴性,且同基因组血管重建明显快于高度不合组和低度不合组。Leuning 等通过小鼠量化测定移植骨的血管生长和新骨形成,结果发现移植骨的整合和排斥反应是受微血管系统调节的, MHC 不匹配加速同种异体骨的排斥反应,但人类由于 HLA 的多态性,除同卵双生外,不可能达到完全组织配型。Muscolo 报告 HLA 配型与同种异体骨移植愈合无明确相关性。目前,临床尚不对同种异体骨移植进行组织配型。

### 3. 对宿主的免疫抑制

对于免疫抑制剂,由于副作用较大,目前只在动物中实验研究,临床对于骨移植一般不用。Shigetomi 等观察,长期使用环孢素(CsA)的带血管的大鼠同种异体骨移植的愈合和不用 CsA 的带血管自体骨移植的愈合相同,CsA 对改善吻合血管同种异体骨移植的愈合有良好的效果。Voggenreiter 等观察免疫抑制剂 FK506 对植入大鼠胫骨的 DBM 骨诱导的影响,结果表明 FK506 能抑制 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞,干扰细胞免疫,增加诱导成骨,促进移植骨愈合。

## 三、异种骨移植

由于同种异体骨存在有传播人类疾病的危险性、骨移植后容易发生软骨退变和骨性关节炎等问题,而且动物骨来源广,取材方便,在众多骨材料中异种骨的研究也是最早的,但异种骨移植面临强烈的免疫排斥问题。异种骨移植后,移植局部出现炎性渗出,伤口破溃,植骨受到排斥,这说明异种骨的生物相容性极差。

### 1. 异种骨移植免疫研究

目前认为,骨是一种复合组织,除骨组织本身的细胞成分和骨基质胶原外,还包括神经组织、脂肪组织、小血管和血液成分,以及纤维结缔组织等,所有这些成分表面都具有遗传基因控制的特异性抗原,这些抗原会引起同种异体或异种骨移植后的免疫排斥反应。参与异种移植免疫应答的因素有多种,对异种骨移植而言,一般认为以特异性细胞免疫和体液免疫为主。一般认为,T 细胞介导的免疫反应发挥主要作用,而体液免疫对移植物的排斥不肯定。Delustro 在研究异种胶原移植时发现,低滴度特异性抗体的存在不影响骨的愈合过程。Elves 研究显示,Oswestry 骨移植 2 周时血清抗体水平低,此时已有较多骨形成,6 周时抗体水平达峰值,成骨量仍持续升高。赵长庚在重组异种骨移植的研究中发现,低滴度抗体的存在并不影响成骨活性,并认为体液免疫在一定范围内并不导致移植排斥及新骨形成。但 Nilsson 在狗颅骨缺损 BMP 植入实验中发现,初次植入 BMP 骨愈合 88%~100%,而二次植入时骨缺损仅有 56%~71%愈合。二次植入 BMP 时,在血清中检测到高滴度抗 BMP 抗体。这说明,BMP 二次植入时宿主体内高水平 BMP 特异性抗体阻碍了 BMP 的诱导成骨作用。目前认为,细胞免疫对异种骨移植时骨诱导的影响较大。Urist 将异种动物的脱钙骨基质埋入大鼠肌间隙,术后组织学检查发现异种骨基质周围有大量淋巴细胞浸润,多核吞噬细胞堆积,周围仅有少量软骨细胞分化而无骨组织生成。Sampath 也曾做过相似的实验,将牛、猴和人的 BMG 植入小鼠皮下,发现植入区出现明显的排斥反应,局部有大量炎性细胞浸润,诱导成骨作用很小。有学者进一步研究发现,小鼠体内新鲜异种骨移植无骨、软骨生成,而见纤维组织和淋巴细胞浸润,外周血及脾内 T 细胞总数及其亚群数目均明显升高,术后 14 天为著,以活化 T 细胞阳性率最高。这些研究表明,异种骨移植免疫排斥反应妨碍了成骨诱导物质充分发挥作用;排斥反应越强,新骨形成就越少。然而,免疫排斥反应究竟通过何种途径干扰骨的诱导形成,至今尚不十分清楚。

## 2. 异种骨材料的抗原性处理

面对异种骨移植时的免疫排斥问题,人们尝试了多种骨材料处理方法,以消除异种骨的抗原性。传统的处理方法主要包括:冷冻和冷冻干燥(Bioplant 骨)、脱钙骨、无机化或脱蛋白(制成完全脱蛋白的 Oswestry 骨和部分脱蛋白的 Kiel 骨),此外,还有煮沸、煅烧及放射线照射等。近年来,又有许多 Bio-os 骨的研究应用报道。但迄今为止,这些方法处理的异种骨无一能取得满意效果。其中,最主要的问题就是在消除异种骨抗原性的同时也削弱了异种骨的诱导成骨能力。研究证实,异种骨的抗原性和诱导活性具有共同的物质基础,在消除抗原性的同时也同样破坏了其诱导成骨的物质。所以,异种骨处理方法难以使异种骨同时充分发挥这两方面的作用。为了解解决好异种骨的抗原性与诱导成骨活性之间的矛盾,有人提出复合植骨和将异种骨内两种成分分开处理的方法。刘玮和胡蕴玉用部分脱蛋白牛骨松质和提纯的 bBMP 复合为一体,将这种新材料命名为重组异种骨(reconstituted bone xenograft, RBX),经动物实验及临床应用取得比较满意的效果。

## 四、人工骨生物材料

对于人工骨生物材料的研究,目前主要有以下几类:高分子材料(macromolecular materials),如聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)即骨水泥,和用于人工关节的高分子聚乙烯,这类材料的生物相容性较差,与骨组织之间有纤维组织间隔。还有一类可生物降解的高分子材料,以聚乳酸(polylactide)和聚乙醇酸(polyglycolide)为代表,目前主要用于可降解内固定材料方面,作为植骨替代材料多以复合材料的形式出现。无机材料(inorganic materials)是应用最多的一类材料,以陶瓷材料(ceramics)为主,分为生物惰性(bio-inert)、生物活性(bio-active)和可降解(biodegradable)材料。生物惰性材料如氧化铝陶瓷,生物活性材料有玻璃陶瓷、生物活性玻璃、羟基磷灰石等,可降解陶瓷主要是 $\beta$ -磷酸三钙。另外还有一类不属于陶瓷的可降解材料,就是天然珊瑚。生物活性材料的主要优点是生物相容性好,能与骨组织产生化学结合或在体内降解,另外强度也较高。陶瓷材料的主要缺点是脆性较大,其弹性模量难以与正常骨相匹配,在一定程度上限制了其在临床上的应用。下面就这些材料分别做介绍。

### 1. 氧化铝陶瓷

氧化铝陶瓷是较早用于临床的一类陶瓷材料,早期用于人工髋关节置换和作为牙科植入材料。该材料属生物惰性陶瓷,具有热力学稳定的化学结构,是陶瓷材料中强度最高的一种,其表面的离子状态决定了它的亲水性。由于化学结构的稳定,在体内不释放可溶性化合物,也不引起毒性反应,因此认为是一种生物相容性材料。植入动物体内后软组织对氧化铝陶瓷的反应主要是纤维组织包膜的形成,在体内可见成纤维细胞增殖。氧化铝陶瓷在动物骨组织中不是骨结合材料而是骨接触材料,植入骨组织后,在负重区与骨组织接触,但在非负重区有纤维组织形成。将颗粒状氧化铝陶瓷植入动物腹膜内、肌肉内、皮下、关节内和静脉内,直径小于 $5\mu\text{m}$ 的颗粒被巨噬细胞吞噬,而直径大于 $10\mu\text{m}$ 的颗粒则留在细胞

外引起粒细胞和淋巴细胞增殖,并逐渐被纤维和血管组织包裹。氧化铝陶瓷在体内被纤维组织包裹或与骨组织之间形成纤维组织界面的特性影响了其在骨缺损修复中的应用,因为骨与材料之间存在纤维组织界面,阻碍材料与骨的结合,也影响材料的骨传导性,长期滞留体内产生结构上的缺陷,使骨组织产生力学上的薄弱。

## 2. 生物活性玻璃和玻璃陶瓷

生物活性玻璃和玻璃陶瓷均属生物活性材料,所谓生物活性是指材料与组织之间可产生化学结合。20余年来对生物活性玻璃和玻璃陶瓷的研究有很大进展,同时有相当多的临床应用报道。

(1) 生物活性玻璃:二氧化硅(分子式:SiO<sub>2</sub>)是玻璃的主要成分,也同样是生物活性玻璃的主要成分。生物活性玻璃的表面有一层水化层,决定了其在体内可与体液及组织作用生成一层含钙和磷的磷灰石(apatite)层,实际上是碳酸羟基磷灰石(hydroxycarbonate apatite, HCA),与正常骨组织中的无机相成分近似。多数生物活性玻璃以一种称为45S5的形式出现,45是指二氧化硅的重量占材料的45%,如果重量超过60%,材料与骨组织的结合作用就会减弱。生物活性玻璃在体内也显示了长期的结构稳定性,生物相容性较好,植入体内后引起轻度的炎性反应,反应细胞以淋巴细胞和巨噬细胞为主。这种材料具有骨传导能力,将颗粒状生物活性玻璃和生物活性玻璃纤维植入动物骨组织均发现有成骨作用。但这种材料在体内不能降解,植入体内后也会长期存留。

(2) 玻璃陶瓷:玻璃陶瓷主要以含磷灰石和硅灰石的玻璃陶瓷(apatite-wollastonite-glass-ceramic, AWGC)为代表,成分与生物活性玻璃接近,植入体内在其表面同样可形成HCA层,骨传导作用与生物活性玻璃相似,生物相容性较好,强度高于生物活性玻璃。但植入体内后的材料表面形成HCA层,玻璃陶瓷的氧化物之间应有合适的比例,HCA如果形成过慢,骨组织与材料的化学结合也不能形成。目前,有关AWGC作为植骨替代材料的实验研究和临床应用研究都比较多。Yamamuro等发现,AWGC与骨的结合至少1年才能完成,表面磷灰石层的形成在3个月时出现。另有学者报道,AWGC与羟基磷灰石(hydroxyapatite, HA)比较,前者的骨传导能力高于后者。也有报道显示玻璃陶瓷植入体内后有薄层纤维组织间隔形成,说明表面HCA的形成需要较严格的生产条件。

## 3. 磷酸钙陶瓷

磷酸钙陶瓷中研究和应用最多的是HA和β-磷酸三钙(β-tricalcium phosphate, β-TCP)。磷酸钙陶瓷的主要成分是钙、磷,与正常骨组织中的成分近似,因此,生物相容性好。

(1) 羟基磷灰石:分子式为Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>,钙磷比为1.67,与正常骨组织的钙磷比一致。HA的来源主要有三种:人工化学合成、动物骨烧结而成和珊瑚(coral)热液转化(hydrothermal conversion)而成。HA由于分子结构和钙磷比与正常骨的无机成分非常近似,其生物相容性很好。大量的体外和体内试验表明,HA在与成骨细胞共同培养时,HA表面有成骨细胞聚集;植入骨缺损时,骨组织与HA之间无纤维组织界面,植入体内后表面也有磷灰石样结构形成。因为骨组织与植入材料之间无纤维组织间隔,与骨的结合性好,HA的

骨传导能力也较强,许多研究表明 HA 植入骨缺损区有较好的修复效果。HA 的破坏强度(fracture strength)较高,可达 79~196MPa,并有较好的抗疲劳能力,但 HA 最大的缺点是脆性较大。在临床上,HA 主要用于牙科材料、某些骨缺损的填充和脊柱融合。HA 是非生物降解材料,在植入体内 3~4 年后仍保持原有形态。也有报道发现 HA 有部分降解,但不是完全降解。

(2)  $\beta$ -磷酸三钙:分子式为  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ,钙磷比为 1.5,与正常骨组织的钙磷比接近。主要用化学合成的方式制备。 $\beta$ -TCP 最突出的特点是可在生物体内降解。动物实验发现, $\beta$ -TCP 在植入乳猪腭突后 24 周完全降解。Renooij 等用放射性核素标记 HA 和 TCP,发现 HA 无降解,而 TCP 在 22 周降解 25%~30%。 $\beta$ -TCP 的生物相容性也非常好,在骨与材料之间无纤维组织间隔,骨与材料直接接触,植入体内后仅有轻度的巨噬细胞反应。有研究表明,这与  $\beta$ -TCP 的降解有关。 $\beta$ -TCP 的骨传导能力比较强,将  $\beta$ -TCP 和 HA 分别植入羊的下颌骨缺损, $\beta$ -TCP 的骨传导作用优于 HA。Andrew 等将 TCP 用于治疗 30 例骨折,其中 13 例骨不连接,获得 90% 的愈合率。 $\beta$ -TCP 的主要缺点是强度比较低,所以当前的研究和应用规模不及 HA。也有人担心和 TCP 的降解速度过快,超过骨修复的速度,因而不主张用 TCP 作为骨移植替代材料。这种担心是有道理的,降解和成骨的速度必须调节在相应的水平,况且 TCP 的强度低于其他陶瓷材料,如果没有迅速的成骨,TCP 的骨修复作用可能会失败。

#### 4. 陶瓷复合材料

不同的材料在骨缺损的修复中均各有优缺点,不同部位和大小的骨缺损对修复材料的要求也不相同,另外,单纯陶瓷材料只有骨传导作用而无诱导作用,因此,单一的材料在修复骨缺损时会暴露出不可避免的缺陷。为解决这一问题,将不同的材料和生物因子结合有可能弥补各种材料的不足,更好地起到骨缺损的修复作用。将 HA 与聚乳酸和聚乙醇酸的混合物复合是较多用的一种复合物,可增加 HA 的强度又可增加材料的降解,同时有较好的骨传导性。也有将 HA 或 A-W-GC 与纤维素、胶原等生物材料复合,目的是提高材料的生物相容性,使材料与骨更紧密地结合。这些材料虽然在某种程度上达到了弥补缺陷的作用,但并不比单纯陶瓷材料的骨修复作用有明显的提高,这些材料在目前还难以与自体骨移植相比。

#### 5. 生物陶瓷与 BMP 复合

Urist 用  $\beta$ -磷酸三钙复合 BMP 植入小鼠大腿肌肉内 4 天便发现有间充质细胞长入,8 天可见软骨分化,12 天有编织骨形成,21 天出现板层骨,同时也发现有少量不同形态的炎性细胞存在,而单纯 TCP 则无新骨形成,从而证实 BMP-TCP 复合物的诱导成骨活性。 $\beta$ -TCP 是一种生物相容性较好、在体内可以生物降解的生物陶瓷,复合 BMP 后复合物同时具有生物陶瓷的骨传导能力和 BMP 的骨诱导能力。随着生物陶瓷的不断发展,BMP 在骨修复方面的应用愈来愈广泛。Ripamonti 等用成骨素复合经珊瑚热液转化形成的可降解和不可降解的两种羟基磷灰石,将复合材料植入 16 个狒狒直径 25mm 的颅骨缺损中,分别在 30 天和 90 天观察,发现不降解的 HA-BMP 复合物的成骨效果优于可降解的复合物。

Ripamonti推测可能与移植物过早地溶解有关,说明可降解材料如果降解速度过快则不能发挥 BMP 的诱导成骨作用,材料本身的骨传导作用也不能充分地表现出来。该研究证实,成骨素的生物活性可以由非有机胶原基质的载体贮存并释放,非降解 HA 亦可作为成骨素的载体发挥诱导成骨作用。除天然珊瑚经热液转化形成的 HA 有良好的生物相容性以外,人工合成的 HA 也具有与骨组织形成化学结合的能力,并不引起组织的排斥反应,与 BMP 复合后植入动物体内同样可表现出较好的骨缺损修复能力。Ono 等多孔 HA 颗粒复合 BMP 后植入兔颅骨骨膜下,发现复合 BMP 组的碱性磷酸酶活性和骨矿物质密度均明显高于单纯 HA 组。在对照组和胶原植入组,骨组织在颅骨和颗粒之间的孔中生长,而 HA-BMP 组新生骨包围整个颗粒。生物活性陶瓷复合 BMP,利用 BMP 强大的骨诱导能力和陶瓷本身良好的生物相容性及骨传导能力,可产生出接近自体骨的骨移植替代材料。但陶瓷材料脆性较大,多孔材料由于结构的原因强度亦有减弱。生物活性陶瓷大多不能降解,可降解陶瓷如降解速度过快,超过骨修复改建的速度,其成骨能力也会相应地受到影响。颗粒状的陶瓷材料与骨松质的强度相似,如控制好降解速度,在复合 BMP 后将会有一定的临床应用价值。

## 6. 高分子材料与 BMP 复合物

高分子材料中也有一些具有较好的生物相容性,并且有些在体内可以降解。近年来,可降解的高分子材料在生物瓣膜、可吸收缝线和内固定材料等生物医学领域里得到了广泛的应用。不同的高分子材料有不同的应用价值。在骨科范围内应用较多的是聚乳酸和聚乙醇酸,两种材料在体内可降解,与 BMP 结合能否引发体内的骨修复机制、加快成骨过程是骨移植方面研究的另一方面内容。Miki 等将用冻干方法制备的多孔聚乳酸盘(freeze-drying poly-L-lactic-acid, FDPLLA)与 BMP 混合植入大鼠颅骨缺损,2 周即发现有新骨形成,而单纯 FDPLLA 组 4 周亦未见成骨。显然,聚乳酸的骨传导能力不及生物活性陶瓷。BMP 与聚乳酸复合同样可发挥其优越的骨诱导能力。Kenley 等用聚乳酸-聚乙醇酸(poly-D, L-lactide-co-glycolide, PLGA)干粉微颗粒与 rhBMP-2 结合,观察到 PLGA 载体与 rhBMP2 结合后具有骨诱导作用, rhBMP 修复大鼠颅骨缺损呈剂量相关性。在研究中发现,未复合 rhBMP-2 的 PLGA 在 21 天时有大量微颗粒残留,而复合 rhBMP-2 10 $\mu$ g 或 30 $\mu$ g 组 PLGA 残留较少,提示 rhBMP-2 或者整个骨诱导过程可能影响 PLGA 的降解。Lee 等用 rhBMP-2 复合 PLGA 修复大鼠股骨 5mm 缺损,同样收到较好的成骨效果。以聚乳酸和聚乙醇酸为代表的可降解高分子材料有一定的机械强度,在体内可以被完全吸收,而且降解速度可以根据需要调节。这些材料特别是 PLA 和 PGA 作为可降解内固定材料已有 20 年的研究和应用的历史,它们的缺点是在降解过程中可产生酸性产物并引起无菌性窦道,作为 BMP 的载体能否导致同样问题还有待进一步研究。现在用作载体的 PLA 和 PGA 都是小或微颗粒状材料。应用范围将会受到一定的限制,修复大段骨缺损的块状材料与 BMP 复合会有更广泛的应用价值。

## 7. 人工材料与 TGF- $\beta$ 复合物

Gombotz 等将 TGF- $\beta$  复合在另一种聚乳酸-聚乙醇酸复合物(poly-D, L-lactic-co-gly-

colic acid, PLPG)上,发现 TGF- $\beta$ -PLPG 复合物中蛋白释放时间持续 600 小时,从载体中释放的 80%~90%的 TGF- $\beta$  保留其生物活性,扫描电镜显示载体有足够的孔隙允许新骨长入。

## 8. 人工材料与细胞成分复合物

用有骨诱导能力的各种因子治疗骨丢失性疾病,有较好的骨诱导效果,但这些因子需要有靶细胞的参与,并需要有一定的诱导时间。有人用可生成骨和软骨的细胞成分与人工材料结合试图让这些细胞直接参与骨和软骨的再生。Nakahara 等用多孔 HA- $\beta$ -TCP 与小鸡胫骨骨膜提取的间充质细胞共同培养,植入裸鼠背部皮下,7 天发现编织骨形成,植入 14 天周边的孔隙被骨组织填满,中心孔隙中增生的软骨被长入的血管和软骨内化骨形成的骨组织取代,认为在陶瓷中心孔内成骨的机制是磷酸钙陶瓷为孔内的培养细胞提供了成骨发生的微环境。Iyoda 等将培养的软骨细胞与 HA 复合修复兔尺骨缺损,植入后 2 周,软骨细胞植入组在材料表面和孔隙内均有软骨增生,4~6 周孔隙内骨形成明显增加,13 周完全为板层骨,植入材料部分吸收。软骨细胞植入体内向成骨细胞方向分化而引起新骨形成,在一定的环境下也可以参与体内的软骨修复。Freed 将培养三代的软骨细胞与 PGA 共同培养,然后植入兔膝关节面 4mm(直径) $\times$ 2mm(厚)的软骨缺损中,6 个月软骨修复优于单纯 PGA 组。PGA 与软骨细胞结合和单纯 PAG 植入相比,软骨细胞组表面光滑,软骨细胞呈柱状排列,软骨下骨板重建较好,修复组织与其下的骨组织形成结合。软骨细胞复合物植入关节后是否可以承受长期的压力刺激,并保持长期的关节光滑,不致引起关节的退行性改变还需更多的研究加以证实。间充质细胞和软骨细胞无疑在体内可刺激骨和软骨再生,但长期传代培养它们的生物活性会逐渐下降,所以,在与人工材料复合前需做好细胞方面的准备。细胞成分移植为同种异体来源,因而存在引起免疫反应的问题。有人认为软骨细胞在不同的条件下比较容易改变基因表达,其抗原成分也可能随环境的变化而不同。另外,成骨细胞在体内还参与磷酸钙陶瓷的代谢,与 PLGA 共同培养发现碱性磷酸酶活性增加,同时可见细胞增殖活跃,提示成骨细胞与 PLGA 结合有体内成骨的潜力。

## 五、移植的适应证

随着异体骨加工、消毒灭菌及储存方法的不断改进,特别是现代骨库的建立,异体骨移植材料在临床应用中更加安全、简便,可选择范围增大,其适应证也随着扩大。除应用在创伤所致骨不连接、骨缺损、良性肿瘤刮除后残腔的填充外,异体半关节置换或大段骨移植已成为骨肿瘤瘤段切除后保留肢体和重建功能的重要手段,其中包括半骨盆置换、肩胛骨置换等,其近期效果满意。在人工关节置换或翻修治疗中,植骨术作为辅助手段逐渐被广泛应用。在脊柱融合手术中,特别是脊柱侧凸矫形后,后路大范围融合术时,异体骨可以避免取自体骨的创伤、供骨量有限的缺陷,且因其使用方便等优点而被广泛应用并取得良好效果。异体指骨移植,配合甲瓣或局部皮瓣转移再造手指,为骨移植术开辟了新的应用领域。

## 六、同种异体骨的处理方法

同种异体骨的处理方法有很多,按机械加工类型的不同,有异体半关节、骨段、骨板、骨条、骨钉、骨螺丝钉、骨粒、骨粉等。减低抗原性保存成骨活性的方法,有深低温冷冻(-80℃冰箱或液氮)、冷冻干燥、脱脂、脱钙、部分脱蛋白等,消毒灭菌有 $\gamma$ 射线辐照、环氧乙烷气熏等。目前临床上应用的异体骨大多数是经过两种或两种以上的方法处理,从目前国内有关报道,植骨成功率在71%~100%之间不等,对不同方法处理的异体骨的骨修复能力的比较实验研究资料较少,临床上更缺少较严格的大宗病例的前瞻性研究,故对不同处理方法的异体骨疗效的比较尚难做出评价。根据目前临床和各家总结,有以下几点可供临床参考:

(1) 颗粒骨较大块(段)骨疗效好,排斥反应轻,主要原因是抗原处理,前者较后者彻底,故在不需要机械支撑时,应优先考虑颗粒骨。

(2) 冷冻干燥法能有效减低异体骨的抗原性,较好保存植骨材料的生物活性,由于能长期保存,便于运输,故是骨库的基本处理方法,同时可以加上脱脂、脱钙(部分脱钙)、部分脱蛋白等方法,以更有效降低抗原性。

(3) 对需要保留软骨活性的异体半关节,可采用无菌取骨、深低温冷冻的保存方法。

(4) 酒精贮骨简便易行,此方法在基层单位有其使用的价值,但由于酒精不能有效减低异体骨的抗原性和杀灭细菌芽孢,对灭病毒无效,故临床上也不做推荐使用。

## 七、骨移植疗效的评价

对于骨移植的疗效,目前尚无统一评价标准。对于疗效评价,可以参考以下几点:

(1) 临床判断植骨愈合的基本依据是临床检查和X线平片检查。

(2) 对于无骨缺损的植骨病例(如骨不连接、骨钉内固定、关节融合等),植骨愈合可按骨折愈合标准判定。

(3) 大段骨移植或半关节置换时,当植骨与受区骨连接处发生融合,在一定内或(和)外固定支持下,能满足一般基本生理活动需要,可判定为植骨愈合。

(4) 不需要起机械支撑作用的空腔植骨时,当新骨生长、植入骨粒边界模糊,一般功能活动无不适者,可判定为植骨愈合。

(5) 临床总结骨移植疗效时,尽可能按不同病种(或不同适应证)及不同植骨类型分别进行总结,以便比较。

(6) 凡因非植骨因素本身造成的植骨失败病例(如肿瘤复发、内固定或功能锻炼不当等),在总结疗效时应该剔除。

## 八、骨库的建立和同种骨生产技术的标准

骨库的建立,是将事先采集、贮存并经过处理的同种骨甚至异种骨用于治疗,为临床使

用安全有效的骨移植材料提供了促证。骨移植广泛应用于临床,是自 20 世纪 50 年代骨库建立之后开始的。1942 年,古巴医生 Inclan 首先提出骨库的概念。1950 年,美军总结第二次世界大战战伤救治经验,在马里兰州建立了美国海军组织库,采用深低温冷冻或冻干法保存同种异体移植物。以后,麻省总医院和迈阿密大学也相继建立了大型骨库。随着供骨来源的增加和贮骨方法的改进,骨库在世界上逐渐普及,加拿大、前苏联、英国、法国、波兰、捷克、斯洛伐克、日本等国均建有规模不同的骨库,所贮存的都是同种异体骨。

对于同种异体骨生产技术的标准,主要参考美国组织库协会技术手册(AATB,1992)和美国红十字组织库标准(ARCTS,1994)编写的技术标准。

## (一) 骨的获取

### 1. 供体来源

同种骨的主要来源是死亡供体。获取死亡供体骨组织需遵守当地政府有关法令,或得到本人生前和(或)其直系亲属签署的书面同意证明材料。

### 2. 供体选择标准

有下列情况之一不得为供体:病史、体检、化验、尸检证明有全身或局部的活动性感染者,恶性肿瘤患者,性病者,传染性肝炎或乙型肝炎血清学反应阳性者,患艾滋病或抗 HIV 抗体血清学反应阳性者,或者有艾滋病高危险经历(例如吸毒、患性病、同性恋、卖淫或嫖娼、来自艾滋病高危区)者,自身免疫性疾病患者,中毒患者,长期使用呼吸机者,激素治疗者,取骨部位存在病变或损伤者,死因不明者。当骨被用于结构支持时供体年龄小于 50 岁(女)和 55 岁(男),并大于 18 岁,带关节软骨材料的供体应低于 35 岁,当骨用于填充时没有年龄限制。

### 3. 取骨步骤和方法

(1) 活存供体:活存供体骨来自骨科手术中的废弃骨(如髋关节成型手术截下的股骨头),由骨科医生在严格无菌条件下采集,在手术室放在双层灭菌塑料袋中,暂存在 $-20^{\circ}\text{C}$ 以下的冰箱。2 周后由骨库工作人员利用低温容器取回,截肢后肢体用灭菌布包裹,当日送骨库,采用与尸体取骨相同的无菌操作取骨。

(2) 死亡供体:获取时间为再死亡后 12 小时(室温条件下)或 24 小时内( $2\sim 10^{\circ}\text{C}$ 条件下)。术前准备:取骨应在相当于手术室洁净程度的房间内。取骨全过程按外科手术要求进行术前准备。取骨方法:按骨、关节、韧带、肌腱的解剖学部位分离和获取骨骼,取骨的一般顺序依次为四肢关节、躯干、颌骨。尸体复形:获取肢体的部分长骨例如膝关节时应该用木棍充塞支撑取骨后的缺损,进行修复。

### 4. 骨获取后的保存和运送

获取的骨骼立即送往骨库进行制备或低温保存。假如需经过 6 小时以上方能送到制备或保存地点,需放入装有冰袋或干冰的隔温箱内携带。

## (二) 制备、封存和灭菌

### 1. 骨关节同种移植

带关节软骨的骨关节移植经常是刮除表面骨膜及保留周围韧带或关节囊的股骨下端和胫骨上端,或从该处截取的部分骨块。为保持软骨细胞存活,不经二次灭菌,因此需在严格无菌条件下获取和锯裁,尸体血液菌检和骨多点擦试菌检阳性者放弃不用。获取和锯裁后按下述方法制成新鲜的或冷冻保存的骨关节移植。新鲜保存:将骨材料放入含有抗生素的营养液 2~8℃ 下保存,96 小时之内使用。患者需对所用抗生素没有过敏反应。冷冻保存:将纱布和棉花浸蘸内含冷冻保护剂(15%甘油)的营养培养液,包覆于软骨表面,封入 3 层塑料袋,标记后置入 -70℃ 以下冰箱保存 <5 年。或浸入冷冻保护营养液经逐步降温后冷冻保存。冷冻保存的软骨细胞的存活能力不如新鲜保存,但骨端愈合优于新鲜保存。必要时骨关节移植可以像制备深度冷冻骨一样进行二次灭菌,这时软骨细胞将全部死亡。

### 2. 深度冷冻骨

取新获取的或低温保存后解冻的同种骨,将表面软组织、骨膜和骨端软骨剔除刮净,根据需要将骨皮质和骨松质锯裁成不同尺寸的骨段、骨条、骨块、骨板和骨钉。用灭菌盐水或蒸馏水彻底清洗,除掉骨髓组织。取出后在空气过滤与换气达到洁净度 10 万级的控制间内将产品放入 3 层塑料袋中,外侧两层之间贴附产品标签和灭菌标签,逐层封烫,最外层的封烫宽度 >5mm,然后进行能穿透产品包装的有效的二次灭菌。推荐使用环氧乙烷或辐照灭菌,-70℃ 保存 <5 年。经严格无菌获取,并于封装前擦试菌检阴性的产品可不经二次灭菌。为减少深度冷冻骨内的水分,需在水洗后进行离心脱水,然后封装、灭菌,并保存于 -70℃。产品封装也可使用安瓿或其他有效密封容器。

### 3. 冷冻干燥骨

将新制成的深度冷冻骨放入干燥机,使骨内含水量降低到 5% 以下。然后封装,二次灭菌,室温下保存 <5 年。冷冻干燥骨通常适于制备骨松质条、骨块、骨钉和需要室温运送与保存的大段骨。

### 4. AAA 骨、脱矿骨和表面脱矿骨

AAA 骨(antigen-extracted autolysed allogeneic bone,去抗原自溶同种骨)是经特殊方法制备的脱矿骨,它与普通盐酸脱矿骨一样,都是保存骨形成蛋白(BMP)和具有骨诱导能力的骨移植材料,多用于骨腔充填和成骨,因机械强度下降不适于承重。

(1) AAA 骨的制备程序(Urist1980):11:1 乙醚乙醇液 25℃ 浸 4 小时,脱脂,除去脂蛋白;20.6mol/L HCl 2℃ 浸 24 小时,脱矿,除去酸溶性蛋白;30.1mol/L 磷酸缓冲液 pH7.4,每升内含 10mmol/L 碘醋酸和 10mmol/L 叠氮化钠,37℃ 浸 72 小时,使移植抗原自溶,保护 BMP;冷冻干燥,然后封存,二次灭菌,室温保存 <5 年。

(2) 单纯脱矿骨制备程序:0.6mol/L HCl 2℃或室温浸泡 12 或 24 小时,彻底冲洗然后冷冻干燥,封存和二次灭菌方法同上。

## 5. 骨粉

经过冷冻干燥的 AAA 骨、脱矿骨或未脱矿骨研磨成骨粉。骨粉颗粒直径 0.05~0.5mm,由不同孔目的筛网获得。直径小于 0.05mm 者成骨活性有限,弃去不用。用磁铁除去可能来自研磨机的微细铁屑。合格骨粉封装后二次灭菌,在室温下保存<5 年,主要用于充填颌面的较小骨腔。

## 6. 骨-腱-骨材料

将髌韧带连同其所附着的胫骨和髌骨小块一同取出,制成骨-腱-骨移植物,或将跟腱连同小块跟骨一同取出,制成骨-腱移植物,按制备深度冷冻骨或冷冻干燥骨的方法进行处理和保存。骨-腱-骨用于修复韧带,例如膝关节交叉韧带。

# (三) 质量管理

## 1. 一般原则

骨库须指定不直接承担(或不主要承担)组织材料制备任务的专人负责质量管理工作,包括为保证产品安全与质量所需要的特点检验项目,记录登记与档案资料的管理,以及内部的质量审核与总结。

## 2. 质量检验项目

(1) 不进行二次灭菌的产品其多点擦拭菌检需为阴性。

(2) 进行二次灭菌的产品的灭菌检验:将封装在塑料袋内的对照菌条(如枯草杆菌或短小芽孢杆菌)与产品同时接受二次灭菌,然后对菌条检菌;并对每批组织产品进行抽样(不低于 3%)检菌。对照菌条或抽样产品菌检阳性者不能使用。应不定期检验产品封装前的初始菌量以便对所用灭菌保证剂量进行确认,保证产品灭菌后微生物的存活概率不超过  $10^{-6}$ 。

(3) 灭菌效果检验:全部二次灭菌产品均应贴附灭菌反应标签,灭菌后须以规定的颜色表示。

(4) 冷冻干燥材料含水量检验:含水量需低于干燥后重量的 5%。

(5) 包装材料的质量检验:应保证产品包装在灭菌和保存过程中没有破漏、不形成有毒物质的材料内。

## 3. 骨库生产技术手册

骨库应该根据技术标准和质量保证的一般原则建立自己的生产技术手册,对生产过程的每个重要的具体操作程序加以限定,以保证产品达到规定的质量标准。

#### 4. 记录

骨库应建立记录保存制度,包括供体、获取、制备、灭菌、菌检、库存、发放、临床应用随访和仪器设备维护等记录。每个产品都有编号,通过产品编号和生产记录可以对每个组织的来源进行追溯。

#### 5. 产品标签和产品说明

产品包装上应贴附产品标签,提供产品名称、生产日期、保存方法、使用方法、生产单位。包装盒(或外包装)内需附有产品说明,提供该产品制备、质量责任与临床应用的必要信息。

### (四) 产品发放、应用与质量责任

#### 1. 产品发放

将质量检验合格的产品登记到产品库存登记表。产品应根据库存登记表进行发放。发放者应核实产品包装上的标签,证明灭菌反应标签颜色合格,产品编号与产品库存登记表一致,产品内容与用户的要求(书面)一致,产品包装没有破损,然后发出,同时填写产品发放登记表。冷冻干燥产品可在常温下运送。长途运送未经脱水的冷冻骨时应将其放于隔温容器中,内盛足够的干冰或液氮。如在出库后6小时内使用或运送离心干燥的产品,需用内盛冰袋的隔温容器。

#### 2. 产品应用

应通知用户在收到产品后登记产品编号以备日后查询,并检查产品标签、灭菌反应标签和包装中的产品。发现包装破漏,灭菌标签没有达到规定的颜色,包装内的产品与产品标签内容不符时(特别是骨关节材料左、右侧和尺寸不符时)不应使用,并尽快通知供货单位。产品在手术室内用碘酒、酒精消毒外层包装,然后逐层启开,取出产品。为使产品复温和复水,应在手术室内把产品放入40℃灭菌盐水中,其中可加入不引起患者过敏反应的抗生素。同一包装内的产品使用后剩余部分不得供给另外的患者使用,以防止可能出现的交叉感染或细菌污染。

#### 3. 质量责任

骨库应对发放的骨产品的质量和防止疾病传播承担责任。骨库应保证获取、制备、灭菌、保存和质量管理的操作程序符合骨库制定和执行的技术标准。假如临床使用后出现疾病传播或局部感染,并有证据说明这些后果来自启开包装前的产品上存在未被有效灭菌的微生物或来自不合格的供体,骨库应对此承担产品质量责任,并尽快将来自同一供体的和同批生产的产品追回、扣发或销毁。骨库可以根据用户的要求,向用户提供不同种类骨产品的用途与使用方法的技术资料,供用户参考。

## 参 考 文 献

- 陈坚. 1991. 骨移植简史. 中华医史杂志, 21(2):111~114
- 传书, 金伯泉, 杨连甲等. 1992. 骨形成蛋白对 rhIL-2 和同种异体抗原诱导人和小鼠杀伤细胞活性的抑制作用[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 12(1):37~39
- 胡蕴玉, 梁哲. 1996. 同种异体骨移植免疫与骨诱导的相关研究[J]. 中华创伤杂志, 12(6):356~359
- 正义, 李健林, 冯守诚等. 1993. 骨缺损修复的实验力学观察. 中华骨科杂志, 13(6):451~453
- Aron R. 1982. Immunosuppression and rejection of cartilage formed by allogeneic chondrocytes in rats. *J cell Biol*, 95(1): 38~42
- Baron R. 1982. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *J Cell Biol*, 95(1):38~42
- Bos GD. 1983. Immune response by host after allogeneic chondrocyte transplant to the cartilage. *J Bone Joint Surg*, 65A (3):239~243
- Bouwmeester PS, Kuijer R, Homminga GN et al. 2002. A retrospective analysis of two independent prospective cartilage repair studies: autogenous perichondral grafting versus subchondral drilling 10 years post-surgery. *J Orthop Res*, 20(2):267~273
- Burchardt H, Enneking WF. 1978. Transplantation of bone. *Surg Clin North Am*, 58(5):403~406
- Burwell RG, Gowland G, Dexter F. 1963. The viability of articular cartilage in fresh osteochondral allografts after clinical transplantation. *J Bone Joint Surg*, 45B(7):597~600
- Cramyle MBL. 1960. Long-term follow up of fresh femoral osteochondral allografts for posttraumatic knee defects. *Br J Plast Surg*, 8(1):93~96
- Friedlander GE. 1991. Autologous chondrocyte transplantation. *J Bone Joint Surg*, 73A(12):1119~1122
- Goldberg VM. 1985. Rabbit articular cartilage defects treated with autologous cultured chondrocytes. *J Orthop Res*, 3(4):389~392
- Hapman MW, Bucholz R, Cornell C. 1997. Treatment of acute fractures with a collagen-calcium phosphate graft material: a randomized clinical trial. *J Bone Joint Surg Am*, 79(4):495~502
- Heiple KG. 1963. A comparative study of the healing process following different types of bone transplantation. *J Bone Joint Surg(AM)*, 45(4):1593~1596
- Ho AJ, Eskola J, Ekfors T, et al. 1998. Immune responses and clinical outcome of massive human osteoarticular allografts [J]. *Clin orthop*, 346(Jan):196~199
- Lance EM, Kimura LH, Manibog CN. 1991. The Expression of major histocompatibility antigens on human articular chondrocytes[J]. *J Bone Joint Surg(AM)*, 73(8):1157~1161
- Lexer E. 1985. Treatment of cartilage defects of the talus by autologous osteochondral grafts. *Clin Orthop*, 197(2): 111~114
- Liker RR, McKay JJ, Troiano N et al. 1989. Allograft incorporation: a biomechanical evaluation in a rat model. *J orthop Res*, 7(6):585~588
- Miyamoto S. 1993. Bone induction in monkeys by bone morphogenetic protein. *J Bone Joint Surg(Br)*, 75(2):107~110
- Odrigo JJ, Heiden E, Hegyes M et al. 1996. Immune response inhibition by irrigating subchondral bone with cytotoxic agents. *Clin Orthop*, 326(May):96~99
- Odrigo JJ, Travis CR. 1978. Suppressor T-cell activity associated with distal femur allografts in the rat. *Trans Orthop Res Soc*, 3(2):133~136
- Oskey AL. 1997. Amorphous calcium phosphate: the contention of bone. *J Dent Res*, 76(8):1433~1436