

- scope for monitoring brain oxygenation in vivo. *Anesth Analg*, 1996; 82: 269~277
- 24 Pollard V, Prough DS, DeMelo AE, et al. The influence of carbon dioxide and body position on near-infrared spectroscopic assessment of cerebral hemoglobin oxygen saturation. *Anesth Analg*, 1996; 82: 278~287
- 25 Satwant KS, Dorje P, Zelenock GB, et al. Cerebral oximetry in patients undergoing carotid endarterectomy under regional anesthesia. *Stroke*, 1996; 27(1): 49~55
- 26 Harris DNF, Bailey SM. Near infrared spectroscopy in adults. Does the Invos 3100 really measure intracerebral oxygenation? *Anaesthesia*, 1993; 48: 694~696
- (收稿日期: 1998-06-16)

磷酸钙骨水泥的研究与应用进展

张 伟 综述

第二军医大学长征医院骨科(200003)

张其清 审

中国医学科学院、中国协和医科大学生物医学工程研究所(300192)

摘要 磷酸钙骨水泥(CPC)具有良好的生物相容性、生物安全性、可降解性、骨传导性,反应不生热并与硬组织可生物连接,在应用时可随意塑形。其固化反应24小时内基本完成,反应生成具有微孔结构的HAP晶体。抗压强度达30~40MPa,可用于填充松质骨缺损,但不能用于负重骨;加入消炎痛、6-MP、阿斯匹林等,既不明显降低其生物力学性能,又能充当良好的药释载体;CPC能明显增加松质骨螺丝钉固定的拔出负荷,可望用于内固定的加强。

关键词 磷酸钙骨水泥 骨缺损 药物缓释 内固定

1 引言

磷酸钙骨水泥(Calcium Phosphate Cement, CPC),也被称之为羟基磷灰石骨水泥(Hydroxyapatite Cement, HAC),是一种新型的自固型骨水泥。其组成包括固相和液相,固相主要由磷酸钙盐,如磷酸四钙(TTCP)、磷酸三钙(TCP)、二水磷酸氢钙(DCPD)、无水磷酸氢钙(DCPA)、磷酸二氢钙(MCPM)等之中的至少两种组成,还可以有氟化物、半水硫酸钙等;液相可以是蒸馏水、稀酸、血清、血液等。不同的磷酸盐在液相中发生水化反应,其最终产物也是唯一的产物羟基磷灰石

(HAP)。这些反应可以在人体环境(PH中性、温度37℃)中很好地进行,再加上CPC具有良好的生物相容性、生物安全性、可降解性、骨传导性,反应不生热并与硬组织可紧密连接以及可在应用时随意塑形,使其自1986年Brown等首次报告以来,已成为临床硬组织修复领域研究和应用的热点之一^[1]。

2 关于CPC固化反应和理化性能的研究

Fukase等通过扫描电镜观察CPC固化反应发现:CPC各成份相互反应1小时后,在磷酸盐颗粒间出现由小的花瓣状晶体组成

CPC 植入试验证明:4 周后 CPC 块直径轻微增加,这与 CPC 吸收周围的液体有关,此期 CPC 的抗压强度也降低,12 周后 CPC 抗压强度反而增高,说明固化后 CPC 的强度随着自身的被吸收而降低,由于新骨的长入而增高,这是一个动态的平衡过程。

Costantini 等^[12]应用 CPC 修复猫颅骨缺损,观察 6 和 12 个月后发现,植入物渐被新骨和软组织所替代,其中 64.7~77.3% 为新骨。HAP 块的形状和轮廓体积无改变,新骨先从植入物表面长入,然后向深层推进,与同种异体骨移植和新鲜或冷冻自体骨移植的替代过程一致。6 个月时平均新骨长入深度为 7mm,12 个月时为 11.4mm。在 CPC 中加入等量自体骨对新骨形成和长入无显著影响。作者还强调 CPC 由于其亲水性而应用在相当“干燥”的术区,即术中应充分止血。认为 CPC 用于修复非负重区缺损可提供充分的结构上的支持。

Shindo 等^[13]在狗的眶上嵴骨膜下植入 CPC,一侧直接植入,对侧包在胶原膜管内植入,后者使 CPC 的植入操作比较容易,也更加精确。9 个月后直接植入的 CPC 逐渐被新骨替代,而包在胶原膜管内植入者先与周围组织发生纤维连接,能与骨表面牢固连接。组织分析显示:植入物被骨和类骨质替代的量分别为 42% 和 45%。

Kamerer 等^[14]应用 CPC 对经颞岩尖部手术颅骨入口进行修复,结果术后切口愈合,无脑脊液漏。而此类手术因为常常难以取得有效的硬膜缝合和骨入路修补而发生脑脊液漏,也存在脑膜炎的潜在危险。作者相信 CPC 能成为修复术后颞骨和颅底缺损的标准材料。

4 关于 CPC 作为药物缓释载体的研究

除了外伤,炎症、肿瘤以及骨关节病及其经手术后均是导致骨缺损的常见原因。如何使局部组织内的药物浓度保持在一定有效水

平,是决定对这些非外伤性骨缺损的治疗效果的一个很关键因素。寻找一种既能填充缺损又能在局部释放药物的生物材料,已成为许多学者努力的目标和临床医生的一个向往。PMMA 曾被用于这一方面,但 PMMA 有其不可克服的缺陷,如不能与活骨组织生物连接、不能生物降解、新骨不能长入、以及其抑制多核巨细胞的杀菌活性等,因而必然在临床应用中受到许多限制。CPC 的出现才使这一向往有可能成为现实。

Otsuka 等对 CPC 缓释系统作出了大量而细致的研究。为了探讨对骨感染、骨肿瘤、风湿性关节炎、骨质疏松等的治疗,先后将消炎痛、6-MP、阿斯匹林、胰岛素等药物载入 CPC 之中进行研究^[15~21]。在所有这些实验中经 X 光衍射分析均发现:载药 CPC 出现典型的 HAP 衍射峰,而不出现相应的药物衍射峰,提示 CPC 转化成 HAP 晶体而药物呈现非晶体结构,药物的载入并不干扰 CPC 的固化过程。而且载药 CPC 硬化后其衍射峰比单纯 HAP 衍射峰要宽,说明载药 CPC 转化成晶体化程度较低的磷灰石,而这种磷灰石比晶体化程度较高者对硬组织的亲和力更高。红外线光谱分析也证实了此结论。在消炎痛实验中,随着药物的释放,CPC 强度略有降低,3 天后又开始明显增加,这与药物溶解后 CPC 的重结晶有关,显示载药 CPC 能维护良好的力学结构^[19],进一步证实了 CPC 能在不明显降低其作为填充材料的生物力学性能的前提下充当药物载体。

在以上几种药物的实验中,最初的药物释放速度都很快,随后减慢,持续较长一段时间。药物在平均 100 小时后释放速度明显减慢,2% 和 5% 消炎痛的 95% 释放时间分别是 170 小时和 390 小时^[19],0.5% 和 0.2% 胰岛素在 500 小时后分别释放了 50% 和 30%^[16],5% 阿司匹林的 50% 释放时间为 45~70 小时^[17]。5% 6-MP(25mg)在 50 小时和 570 小时释放量分别为 7mg 和 17mg^[18]。

的不定形构,从而使磷酸盐颗粒彼此紧密连接;2小时后晶体物质数量显著增多,大多数呈柱状,少量为盘柱状;4小时后原来的磷酸盐颗粒结构已不明显,结晶越来越大;24小时后固化反应基本完成,晶体在密度较低区域呈辐射状,而在高密度区域呈水平排列^[2]。固化后的CPC就是由这样不同排列的HAP晶体构成的具有微孔结构的固体。微孔的数量和大小视固化操作时的压力大小和固相的成份不同而各异,现有的CPC固化后微孔率一般在26~28%^[3]。Brown等最早报告微孔率为45%,微孔直径一般为2~5nm,这些微孔可允许离子、甲基蓝等通过,而较大粒子如细菌等则不能通过^[1]。

力学强度是硬组织修复材料的一个极其重要的指标,CPC在固化反应进行到4小时就达到了其最大抗压强度,所见报告一般都在30~40MPa^[1,2,4],但力学强度因CPC材料和操作过程的差异而有所不同,其中固化后CPC中的微孔结构对力学强度的影响非常明显,微孔越多,强度越小,当微孔率达到63%时,抗压强度为0。因为过度降低微孔率在工艺上有一定困难,而且孔隙减少又不利于新骨长入,因此有学者建议在增加CPC强度方面不应局限于减少微孔,而应把重点放在如何促进骨组织对CPC的替代行为等方面^[3]。

据Fukase等^[2]的总结,CPC的特性如固化时间、力学强度(抗压、抗拉强度)、微孔结构等受到许多因素的影响:1)固相中除了TTCP外,是用DCPA还是DCPD?后者比前者使所组成的CPC硬化后力学强度减低;2)关于固相物质的颗粒大小,Otsuka等证实,等量的CPC中磷酸盐颗粒越大,其总表面积越小,HAP晶体的形成就越少且越慢,CPC固化后抗压强度也就越低^[5];3)固相中是否加入氟化钙或氟化钠?氟化物能促进固化反应的进行^[6];4)是否加入HAP种粒及其大小和表面积等特性如何?加入HAP种粒能使

晶体先在HAP表面生成并连接,促进固化反应,缩短反应时间,增加抗压强度^[1],Hamanish等报告了加入HAP种粒的CPC固化后抗压强度可增加到40MPa^[4];5)液相的成份(水、稀酸、血清、血液等)能影响固化反应及微孔结构^[4];6)液相中是否加入了氟及其它背景离子。另外,Ohura等在固相中加入半水硫酸钙,促进颗粒状微结构的产生而增加硬化后CPC的强度,抗压强度达到35Mpa^[6]。这些可贵探索提示我们:在CPC的临床应用中,可以根据具体情况任意调整CPC的理化性能,在这些相互影响的性能之间找到合适的平衡,使之更加符合应用要求。

3 关于CPC生物学特性和用于填充硬组织缺损的研究

Costantino、Hong等学者^[4,9,10]通过动物实验发现:CPC植入动物体内未发现毒性反应、异物反应、伤口感染、植入物脱出,炎症反应极轻,仅偶见个别炎症细胞。CPC固化后与骨质连结紧密,并逐渐被新生骨所替代,这种替代是CPC自身被吸收和新生骨长入的结果。

Ohura等^[8]在兔的股骨髓内植入小的CPC块,发现4周后CPC周围即有新骨包围,8周时CPC块几乎完全吸收,并被新骨替代,16周时骨洞内新生骨呈小梁状,认为CPC能刺激骨形成并很快被骨组织替代。在CPC中加入不可吸收的TPC颗粒能保持更长时间的刺激骨形成作用。

Hamanish等^[4]将CPC植入鼠股骨内观察到:第4周CPC与骨组织连接紧密,界面无纤维组织介入;12周时CPC深部也有新骨长入,并被新骨分割成块;植入后CPC矿物质密度下降,至第5周时与邻近胫骨密度相当。加入HAP种粒的CPC强度增加,抗压强度可达40MPa,使之有可能在外固定的辅助下对皮质骨缺损进行坚硬的充填和替代。

Gerhart等^[11]在兔的股、胫骨内进行

通过对药物释放过程的研究发现,药物的释放速度受到一些因素的影响。载药 CPC 是一均匀基质系统,药物在其中的充满液体的微孔内通过弥散作用而实现释放。通过电子探针分析发现,药物的释放先从载药 CPC 的外周开始,但 48 小时后即有从中心的快速释放,而非完全从外周到中心的渐时释放。药物释出后,周围的液体从载药 CPC 的表面渗入到深部,深部的药物继续向外弥散。从药物释放速率与 CPC 微孔的关系曲线可以看出,释放速率随微孔的增多而实现释放。观察发现,微孔直径 0.5~1.0nm 的载药 CPC 的药物释放速率是微孔直径小于 0.01nm 者的 10 倍,说明微孔大小直接影响到药物的释放的速度。而微孔之间的通道曲折程度也明显影响药物的释放,随着曲折程度的增加,药物释放明显减慢,但由于药物释出后,磷灰石可以重结晶,微孔和其间的通道随之不断调整,使药物释放速度相对比较稳定。为了延缓药物释放速率和延长释放时间,还可以将药物填入骨缺损的深部,用 CPC 在表面封填,这种方法得到的药物释放曲线依赖于封填 CPC 的厚度。局部活组织降解产生的含磷蛋白也能促进药物的释放^[17]。通过对这些影响药物释放的因素的调节,就可以调节药物的释放速度和时间,从而使之更加适用于不同病症的治疗。

值得一提的是,由于细菌耐药菌株的不断产生,创伤和术后,MRSA(耐甲氧西林的金葡菌)感染已成为临床(骨感染)治疗的难题之一。万古霉素(VCM)是治疗这一感染的特效药物,但其毒性较大,全身应用易产生一些严重的副反应,如组胺释放、肾毒性、耳毒性等。为了使感染 MRSA 的局部如慢性骨髓炎的病灶附近能维持有效的 VCM 浓度,且尽可能减轻其血药浓度,Hamanish 等^[22]将 VCM 载入 CPC 中进行动物实验发现:鼠的皮下植入载 5%VCM(9.7mg)CPC 后,血药浓度于 2 小时达到高峰(1.11 μ g/ml),但 4

天后就难以测出,而植入处附近组织内 VCM 则维持 3~5 周;在兔有髓腔内植入载 5%VCM(13.6mg)CPC,3 周后骨髓组织中 VCM 平均浓度为 22.2 μ g/ml,而 VCM 对 MRSA 的最小抑菌浓度为 0.4~1.6 μ g/ml。从而认为,VCM—CPC 复合体是局部治疗 MRSA 感染的良好选择。但鉴于 VCM 的毒性和避免耐药菌株的进一步产生,对 VCM 的选用尚需慎重。

对 CPC 载药系统的研究表明,对于伴有骨缺损的感染、肿瘤、风湿病等(包括手术导致的缺损)的治疗,CPC 载药系统是一个很好的选择。目前尚未见临床报告,但有理由相信,CPC 作为缓释载体是有其充分的优越性和广泛应用前景的。

5 CPC 在骨折治疗中的应用研究

关于 CPC 在骨折治疗中应用的研究目前多见于对内固定的加强。Stankewich 等^[23]利用新鲜人尸股骨造成股骨颈完全骨折模型,且每个标本内侧 30%呈粉碎样。每对骨折随机取一解剖复位后以 3 枚松质骨螺丝钉固定为对照,对侧同样复位固定,并以 CPC 在钉道内加强,经生物力学测试:实验组的再移位负荷平均为 4573N,明显大于对照组的 3092N,增加了 69.6%。Mermelstein 等^[24]在狗在股骨远端旋入松质骨螺丝钉,测定其拔出负荷,然后将骨洞充填 CPC 再旋入松质骨螺丝钉,测试后发现,CPC 能明显提高松质骨螺丝钉的固定强度(拔出负荷 1159N/278N)。作者认为,在松质骨质量欠佳或数量不足的部位,可以用 CPC 来加强松质骨螺丝钉的固定。Hamanish 等^[4]报告表面喷涂 CPC 的钛针的拔出负荷是一般钛针的 2 倍、不锈钢针的 4 倍。植入骨髓腔内的 CPC 盘在 30 天后其抗压强度与正常松质骨相似,提示 CPC 可用于松质骨粉碎性骨折的治疗。Gerhart 等^[11]在胫骨髌骨折模型中以 CPC 固定,术后不用外固定或限制活动,12 周后发

现骨折沉入下方的CPC中,说明CPC的强度目前还不足以用于负重骨的骨折治疗。

CPC的研究目前正在进一步深入,一些新型的、改进的CPC材料不断出现,如可通过注射器植入的CPC^[13]、快速固化型^[25]、抗水型CPC^[26~28]等。Liu等^[29]报告的CPC抗压强度达51MPa,使CPC的临床应用更加便捷和可靠。综合上述进展,不难相信,CPC由于其自身的诸多优势,必将成为骨缺损修复、药物缓释载体和骨折治疗等领域非常重要的、不可多得的和应用前景更加广泛的生物材料。

参考文献

- Brown WE, Chow LC. A new calcium phosphate, water-setting cement. In: Brown PW Ed. Cement Research Progress. Wasterville, Ohio: American Ceramic Society, 1986: 352~379
- Fukase Y, Eanes ED, Takagi S, et al. Setting reactions and compressive strengths of calcium phosphate cements. *J Dent Res*, 1990; 69(12): 1852~1856
- Ishikawa K, Asaoka K. Estimation of ideal mechanical strength and critical porosity of calcium phosphate cement. *J Biomed Mater Res*, 1995; 29(12): 11537~11543
- Hamanishi C, Kitamoto K, Ohura K, et al. Self-setting, bioactive, and biodegradable TTCP-DCPD apatite cement. *J Biomed Mater Res*, 1996; 32(3): 383~389
- Otsuka M, Matsuda Y, Suwa Y, et al. Effect of particle size of metastable calcium phosphates on mechanical strength of a novel self-setting bioactive calcium phosphate cement. *J Biomed Mater Res*, 1995; 29(1): 25~32
- Mirtchi AA, Lemaitre J, Munting E. Calcium phosphate cements; effect of fluorides on the setting and hardening of beta-tricalcium phosphate-dicalcium phosphate-calcite cements. *Biomaterials*, 1991; 12(5): 505~510
- Fernandez E, Ginebra MP, Boltong MG, et al. Kinetic study of the setting reaction of a calcium phosphate bone cement. *J Biomed Mater Res*, 1996; 32(3): 367~374
- Ohura K, Bohner M, Hardouin P, et al. Resorption of and bone formation from new beta-tricalcium phosphate-monocalcium phosphate cements; an in vivo study. *J Biomed Mater Res*, 1996; 30(2): 193~200
- Costantino PD, Fredman CD, Jones K, et al. Hydroxyapatite cement I: Basic chemistry and histologic properties. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 1991; 117(4): 379~384
- Hong YC, Wang JT, Hong CY, et al. The periapical tissue reactions to a calcium phosphate cement in the teeth of monkeys. *J Biomed Mater Res*, 1991; 25(4): 485~498
- Gerhart TN, Renshaw AA, Miller RL, et al. In vivo histologic and biomechanical characterization of a biodegradable particulate composite bone cement. *J Biomed Mater Res*, 1989; 23(1): 1~16
- Costantino PD, Fredman CD, Jones K, et al. Experimental hydroxyapatite cement cranio-plasty. *Plast Reconstr Surg*, 1992; 90(2): 174~191
- Shindo ML, Costantino PD, Friedman CD, et al. Facial skeletal augmentation using hydroxyapatite cement. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 1993; 119(2): 185~190
- Kamerer DB, Hirsch BE, Snyderman CH, et al. Hydroxyapatite cement; a new method for achieving watertight closure in transtemporal surgery. *Am J Otol*, 1994; 15(1): 47~49
- Otsuka M, Matsuda Y, Suwa Y, et al. A novel skeletal drug delivery system using self-setting calcium phosphate cement 2: Physicochemical properties and drug release rate of the cement-containing indomethacin. *J Pharm Sci*, 1994; 83(5): 611~616
- Otsuka M, Matsuda Y, Suwa Y, et al. A novel skeletal drug delivery system using self setting calcium phosphate cement 3: Physicochemical properties and drug release rate of bovine insulin and bovine albumin. *J Pharm Sci*, 1994; 83

- (2):255~258
- 17 Otsuka M, Matsuda Y, Suwa Y, et al. A novel skeletal drug delivery system using self-setting calcium phosphate cement 4; Effects of the mixing solution volume on the drug release rate of heterogeneous aspirin-loaded cement. *J Pharm Sci*, 1994; 83(2): 259~263
- 18 Otsuka M, Matsuda Y, Suwa Y, et al. A novel skeletal drug delivery system using self setting calcium phosphate cement 5; Drug release behaviour from a heterogeneous drug-loaded cement containing an anticancer drug. *J Pharm Sci*, 1994; 83(11): 1565~1568
- 19 Otsuka M, Nakahigashi Y, Matsuda Y, et al. A novel skeletal drug delivery system using self-setting calcium phosphate cement 7; Effect of biologic factors on indomethacin release from the cement loaded on bovine bone. *J Pharm Sci*, 1994; 83(11): 1569~1573
- 20 Otsuka M, Matsuda Y, Fox JL, et al, A novel skeletal drug delivery system using self setting calcium phosphate cement 9; Effect of the mixing solution volume on anticancer drug release from homogenous drug-load cement. *J Pharm Sci*, 1995; 84(6): 733~736
- 21 Otsuka M, Matsuda Y, Yu D, et al. A novel skeletal drug delivery system for anti-bacterial drugs using self-setting hydroxyapatite cement. *Chem Pharm Bull*, 1990; 38(12): 3500~3502
- 22 Hamanish C, Kitamoto K, Tanaka S, et al. A self-setting TTCP-DCPD apatite cement for release of vancomycin. *J Biomed Mater Res*, 1996; 33(3): 139~143
- 23 Stankewich CJ, Swiontkowski MF, Tencer AF, et al. Augmentation of femoral neck fracture fixation with an injectable calcium-phosphate bone mineral cement. *J Orthop Res*, 1996; 14(5): 786~193
- 24 Mermelstein LE, Chow LC, Friedman C, et al. The reinforcement of cancellous bone screws with calcium phosphate cement. *J Orthop Trauma*, 1996; 10(1): 15~20
- 25 Miyamoto Y, Ishikawa K, Fukao H, et al. In vivo setting behaviour of fast-setting calcium phosphate cement. *Biomaterials*, 1995; 16(11): 855~860
- 26 Ishikawa K, Miyamoto Y, Kon M, et al. Nonddecay type fast-setting calcium phosphate cement; composite with sodium alginate. *Biomaterials*, 1995; 16(7): 5227~5232
- 27 Miyamoto Y, Ishikawa K, Takechi M, et al. Nonddecay type fast-setting calcium phosphate cement; setting behaviour in calf serum and its tissue reponse. *Biomaterials*, 1996; 17(14): 1429~1435
- 28 Ishikawa K, Miyamoto Y, Takechi M, et al. Nonddecay type fast-setting calcium phosphate cement; hydroxyapatite putty containing an increased amount of sodium alginate. *J Biomed Mater Res*, 1997; 36(3): 393~399
- 29 Liu C, Shen W, Gu Y, et al. Mechanism of the harding process for a hydroxyapatite cement. *J Biomed Mater Res*, 1997; 35(1): 75~80

(收稿日期: 1998-04-14)