

羟基磷灰石/脱矿骨复合物增高牙槽嵴的实验研究

陈松龄¹, 王大章², 冉 炜¹, 匡代军¹, 黎炽彬¹

(1. 中山医科大学附属第一医院口腔科, 广东 广州 510080; 2. 华西医科大学口腔医学院, 四川 成都 610041)

摘要:【目的】观察羟基磷灰石(HA)/脱矿骨复合物骨膜下植入增高牙槽嵴的成骨反应。【方法】在犬下颌体部及下颌磨牙区无牙颌牙槽骨顶部, 骨膜下植入羟基磷灰石/脱矿骨复合物为实验组, 并设单独羟基磷灰石植入为对照组。经3周、6周、12周和24周后处死动物, 取材作大体观察、组织学观察和扫描电镜观察。【结果】实验组术后3周即见类骨质产生, 材料和基骨界面开始结合; 术后6周材料和基骨大部分结合; 12~24周新骨增多, 相互连接, 充满羟基磷灰石间隙并与之结合。对照组术后3周末见新骨形成; 术后6周材料与基骨始见结合; 术后12~24周只见新骨从界面少许形成。【结论】骨膜下植入羟基磷灰石/脱矿骨复合材料较之单纯的羟基磷灰石植入可见较快的新骨形成, 材料和基骨界面较早结合, 较多的新骨形成充满羟基磷灰石间隙。

关键词: 羟基磷灰石; 脱矿骨; 牙槽嵴增高术

中图分类号: R782.2; R318.08 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2000)04-0280-04

Experimental Study on Alveolar Augmentation with Hydroxyapatite/ Demineralized Bone Powder Composite

CHEN Song-ling¹, WANG Da-zhang², RAN Wei¹, KUANG Dai-jun¹, LI Chi-bin¹

(1. Stomatology Department, First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510080, China;
2. School of Stomatology, West China University of Medical Sciences, Chengdu 610041, China)

Abstract:【Objective】To investigate the osteogenetic reaction of subperiosteal implantation of hydroxyapatite(HA)/demineralized bone powder composite.【Methods】In the mandibular bodies and on the mandibular posterior edentulous areas, hydroxylapatite/demineralized bone powder composites were implanted subperiosteally as experimental group, and hydroxylapatite only implanted subperiosteally as control group. 3, 6, 12 and 24 weeks later, the animals were killed. The implantation samples were taken and investigated with gross observation, microscopic observation and scanning of electronic microscope.【Results】In the experimental group, 3 weeks after operation, the bone-like tissue was seen, interface integration began between materials and base bone. 6 weeks after operation, the interface between materials and base bone could be seen integrated in most area; 12~24 weeks after operation, more new bone appeared, communicated and filled the spaces of hydroxyapatites. The new bone integrated with hydroxyapatite. In the control group, 3 weeks after operation, no bone-like tissue was seen. 6 weeks after operation, material integration with base bone just began; 12~24 weeks after operation, only a little new bone formed in the interface.【Conclusions】Compared with hydroxyapatite, subperiosteal implantation of hydroxyapatite/demineralized bone powder composite can make earlier new bone formation, earlier interface integration between materials and base bone. The new bone fills the all spaces of hydroxyapatite.

Key words: hydroxyapatite; demineralized bone; alveolar augmentation

收稿日期: 2000-04-02

基金项目: 广东省科委基金资助项目(97016)

作者简介: 陈松龄(1963-), 男, 海南儋州人, 博士, 副教授。

羟基磷灰石(HA)微粒牙槽嵴增高术可有效地恢复萎缩的牙槽嵴的高度和外形。实验研究已表明,HA微粒可作为一种良好的支架基质引导骨形成。但骨引导过程缓慢,只见种植体基底有少量骨形成^[1]。异体脱矿骨具有骨诱导性,将它植入皮下组织、肌肉等骨外区域均可见到新骨形成。本实验用致密多晶羟基磷灰石微粒/异体脱矿骨复合材料行牙槽嵴增高术,观察这种复合材料引导和诱导新骨生成能力。

1 材料和方法

1.1 脱矿骨制备

选择3只年轻雄性犬,体质量9~11 kg,第3磨牙未萌、健康。动物处死后立即收集管状骨,去两端骺骨,手工剥除附着软组织,砸烂成碎块,清除骨髓、水洗、液氮冷冻,粉碎机将骨块碾成骨粒,筛选500~900 μm骨粒,1:1氯仿-甲醇脱脂、室温、4 h。0.6 mol/L HCl(盐酸)脱矿48 h,酒精脱水,4℃冰箱贮存备用。

1.2 材料复合

致密HA微粒与脱矿骨以1:1比例混和而成,术前脱矿骨经环氧乙烷消毒,HA微粒高压消毒。

1.3 实验动物分组

1.3.1 下颌体部骨膜下植入 选择16只健康杂种犬,雌雄兼备,第3磨牙萌出。分4组,每组4只。在每只动物的一侧下颌体部骨膜下植入单纯的HA微粒作为对照,于对侧相同部位植入HA/脱矿骨复合材料,作为实验侧。动物于术后3周、6周、12周和24周分组处死。

1.3.2 牙槽嵴顶部骨膜下植入 另选8只成年犬,分4组,每组2只。每只犬拔除下颌后牙,建立下颌骨后牙区无牙颌模型,3周后行牙槽嵴增高术,一侧设为对照(单纯HA),对侧设为实验侧(HA+脱矿骨),分3周、6周、12周、24周处死动物,每次2只。

1.4 观察手段和内容

动物处死后,将下颌骨HA种植体及其周围基骨与软组织整块切下,作大体观察种植体的高度、外形和结实度。将下颌体部HA种植体标本自种植区中央分切成两块,牙槽嵴顶部种植体标本分前、中、后切成3块,行高度测量,即以种植体的顶点与基骨界面的距离作为种植体高度。标本在福

尔马林溶液固定3 d,脱钙,包埋,蜡块切片,HE、三色染色法染色。光镜组织学观察HA微粒种植体之间的新骨形成情况、HA与基骨界面的结合情况和新骨自界面向种植体内长入的高度。实验组12~24周部分标本戊二醛固定,金刚砂片分切,低温断面磨平,酒精逐级脱水,在扫描电子显微镜(AM-RAY-1000BSEM)下主要观察新骨形态以及新骨和羟基磷灰石结合的界面关系,同时作X线能谱分析。

1.5 统计分析

计量资料采用 t 检验判定组间差异。

2 结果

2.1 大体观察

两组种植体高度均未见明显减低。外形圆滑、结实。术后3周时,种植体有轻微的压缩感。6周标本种植体呈骨样硬度。术后12~24周标本硬度增加。24周复合材料种植体仍可达平均4.8 mm的高度,与单纯HA种植体的高度相差不大。

2.2 组织学观察

2.2.1 对照组标本 术后3周,纤维组织包绕微粒,术后6周,界面有部分底层致密HA微粒与基骨直接结合。术后12~24周,界面骨性融合,新骨生成少,只达1~2 mm高度(图1)。

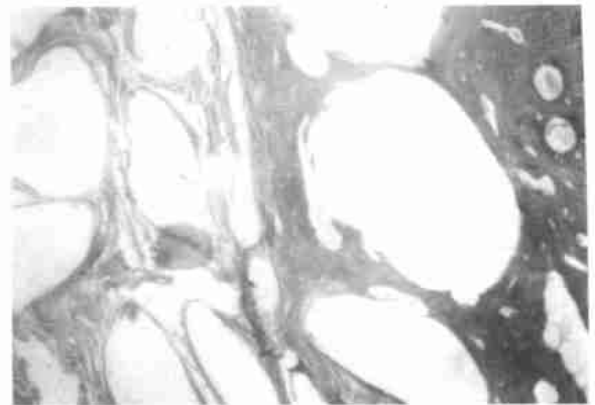


图1 对照组术后24周种植骨界面

Fig 1 Interface of implantation 24 weeks after operation in control group

A little of new bone grew into implant (HE, 4×10)

2.2.2 实验组标本 ①术后3周标本:见致密HA微粒与脱矿骨骨粒均为纤维组织包绕,但不够致密。纤维组织包绕脱矿骨骨粒,并与之结合,部分

脱矿骨骨粒被吸收, 由纤维组织代替, 也可见少量的成骨细胞和类骨质。整个种植体间隙仍主要由纤维组织充满。种植体与基骨界面尚有明显的纤维组织分隔, 但此时已见部分区域基骨长出一些骨芽, 穿过界面向种植体内长入, 与 HA 微粒和脱矿骨结合。②术后 6 周标本: 显示较致密纤维组织包绕 HA 微粒与脱矿骨。脱矿骨已有吸收, 并可见成排骨细胞和类骨质。一些脱矿骨吸收边缘由有生机的骨细胞和骨组织代替, 新骨骨细胞核明显, 胞体大, 与脱矿骨有明显分界线。残留的脱矿骨未见细胞核存在。种植体-基骨界面已发生融合, 新骨包绕基骨附近的 HA 和脱矿骨微粒, 并直接结合。界面新骨长入可达 1~2 mm。种植体内新骨组织未见连成片。③术后 12 周标本: 脱矿骨骨粒继续被吸收, 其吸收部分有的已完全为纤维组织和类骨质代替, 并见毛细血管居于其中间。有的则被新骨组织部份或大部份代替。部分 HA 种植体区域已见新骨连接成片。种植体-基骨界面新骨形成活跃, 脱矿骨周围见较多的新骨组织, 相互连接成片。脱矿骨残留部份居于新骨之间。致密 HA 人工骨、脱矿骨和新骨直接结合, 未见纤维组织分隔存在。④术后 24 周标本: 脱矿骨周围新骨形成活跃, 大部份新骨能相互连接, 新骨自界面可直达顶层。新骨与 HA 直接结合, 尚可见残存脱矿骨(图 2)。

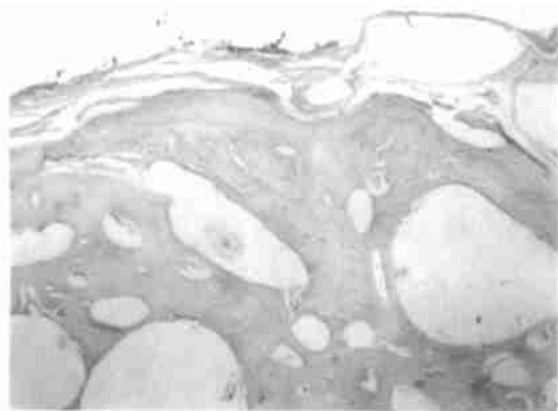


图 2 实验组术后 24 周种植骨界面

Fig 2 Interface of implantation 24 weeks after operation in experimental group

New bone grew into all spaces of implant (HE, 4×10)

2.3 两组种植体内新骨长入高度比较

两组种植体内新骨长入高度比较结果见表 1。

2.4 扫描电镜观察和 X 线能谱分析

新骨在扫描电镜下显示较致密板层结构, 与羟

表 1 两组骨膜下种植体新骨形成高度

Table 1 The height of new bone in two groups of subperiosteal implants (h/mm)

Group	n	3 week	6 week	12 week	24 week
Control	6	0.0	0.1±0.0	0.8±0.2	1.2±0.5
Experimental	6	0.5±0.1	1.0±0.2	2.8±0.4	3.8±0.5
P		< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

The table shows more bone formation in HA/demineralized bone powder group than HA group

基磷灰石无纤维组织间隔(图 3)。新骨组织的 X 线能谱分析显示钙磷元素含量与基骨组织相同。

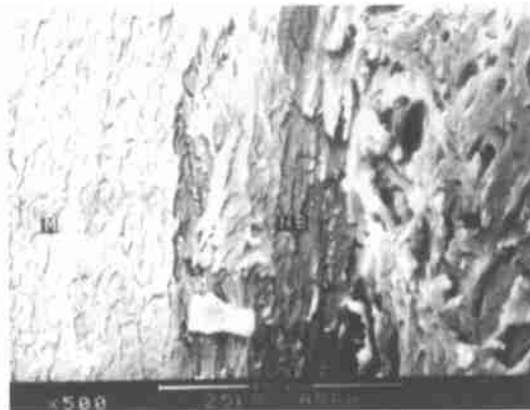


图 3 扫描电镜下术后 24 周实验组新骨与 HA 界面

Fig 3 Interface of new bone and HA 24 weeks after operation in experimental group under scanning of electronic microscope

New bone integrated directly with HA (×500)

3 讨论

3.1 脱矿骨制备及其诱导性

管状骨是具有较高骨诱导性的异体骨材料。无机酸或有机酸都有人尝试用来制备有骨诱导性的脱矿骨。已证实盐酸和 EDTA 可用作脱矿溶液^[2]。Pettis、马振国^[3,4]等应用 0.5~0.6 mol/L HCl 为脱矿液。本实验以 0.6 mol/L HCl 制备脱矿骨, 是基于它对骨诱导性的影响最小^[5]。脱矿骨骨粒大小是影响骨诱导性的一个因素。Reddi 等^[6]实验表明, 微粒过小的脱矿骨的骨诱导能力差, 本实验筛选出 500~900 μm 骨粒证明有良好的骨诱导性, 术后 3 周即可见新骨形成。

3.2 羟基磷灰石复合脱矿骨的意义

单纯致密 HA 骨膜下种植组, 其新骨形成有

限。即使种植后 24 周,也只有少量的新骨长入,得不到一个新生的骨性牙槽嵴,而是以 HA 与纤维组织结合为主。这样一个牙槽嵴虽然能够维持一般情况下的咀嚼力量,但如欲重建一个有相当高度的牙槽嵴时,单纯采用 HA 则难以获得一个稳定、坚固的新牙槽嵴,以承担复杂的咀嚼功能。本研究结果提示,用 HA 与骨诱导性物质复合植入重建牙槽嵴,是一种合理的设计。本实验结果表明,用 HA 与脱矿骨复合材料植入,能大大加快骨受植区的新骨形成,促进 HA 复合种植体-基骨界面骨性融合,术后 3 周不仅见新骨形成,且见部分界面(种植体-基骨)骨性结合,术后 24 周见复合种植体内有大部份成片的新骨分布,可达种植体全层。Kaban 等^[7]建立犬下颌无牙颌模型,以脱矿骨作牙槽嵴增高术的实验研究,将脱矿骨骨膜下植入切牙至第一磨牙区的牙槽嵴。2 周后发现脱矿骨诱导大量的新骨形成并与基骨紧密结合。这一结果与 1972 年, Narang 等^[8]以脱矿骨作犬牙槽嵴增高术的实验观察相符。然而临床应用缺点是较之陶瓷类材料,得不到迅速结实的牙槽嵴。用致密 HA 微粒复合脱矿骨是基于这样一个设想:羟基磷灰石可以作为新建牙槽嵴的结构支架,提供骨诱导和骨引导的新骨附着基质,并塑造稳定的外形、高度。脱矿骨则是形成新骨的主要物质。本实验证明了这一设想是可靠的。

比例选择有其特殊意义,脱矿骨所占比例过大或全部为脱矿骨,可能获得更多的新骨形成,但因脱矿骨吸收而不易获得稳定高度。而致密 HA 微粒所占比例过大则较少新骨形成。本组以 1:1 比例混和 HA 微粒和脱矿骨,观察到种植体内随时间延长可获得较多的新骨形成,也能保持术中塑造的高度。

3.3 脱矿骨的成骨特点

本研究的组织学观察结果揭示,脱矿骨粒的种植无明显抗原性,无排斥现象,植入后很快被纤维组织包绕、吸收,出现软骨母细胞和成骨细胞。脱

矿骨的成骨特性与其具有某些骨诱导性化学物质有关。用 0.6 mol/L HCl 脱矿制成的骨基质去除了异体骨的无机盐成份,保持了骨诱导的活性成分。这种成分是骨形成蛋白(BMP)。在脱矿骨的基础上作者提取了部分纯化的 BMP。因而脱矿骨这种无活细胞、无生机的骨基质,通过 BMP 对宿主间质细胞的作用,使之分化为不可逆转的成骨细胞和软骨母细胞,形成新骨。因此,脱矿骨成骨作用称之为骨诱导。脱矿骨比自体骨来源充足,制备容易,临床应用方便,以及排异反应轻。

参考文献:

- [1] Bifano C A, Edgin W A, Colleton C, *et al.* Preliminary evaluation of hydroxylapatite cement as an augmentation device in the edentulous atrophic canine mandible[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998, 85(5): 512.
- [2] Harakas N K. Demineralized bone-matrix-induced osteogenesis[J]. *Clin Orthop*, 1984, (188): 239.
- [3] Pettis G Y, Kaban L B, Glowacki J, *et al.* Tissue response to composite ceramic hydroxylapatite/demineralized bone implant[J]. *J Oral Maxillofac Surgery*, 1990, 48(10): 1068.
- [4] 马振国. 部分脱矿异体骨移植的实验研究[J]. *中华口腔医学杂志*, 1991, 26(4): 225.
- [5] 韩祖斌, 李承球, 孙贤敏, 等. 骨形态形成蛋白与羟基磷灰石[J]. *中华骨科杂志*, 1988, 8(4): 300.
- [6] Reddi A H, Huggins C B. Influence of geometry of transplanted tooth and bone on transformation of fibroblasts[J]. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1973, 143(3): 634.
- [7] Kaban L B, Glowacki J. Augmentation of rat mandibular ridge with demineralized bone implant[J]. *J Dent Res* 1984 63(7): 998.
- [8] Narang R, Wells S, Laskin D M, *et al.* Ridge augmentation with decalcified allogenic bone matrix grafts in dog[J]. *J Oral Surg*, 1972, 30(10): 722.

(编辑 张敏瑞)

本刊被广东省人事厅列为国家级期刊

根据广东省人事厅“粤人职[1999]23号文”《关于印发广东省卫生技术人员高中级专业技术资格条件的通知》,本刊与《北京医科大学学报》、《上海医科大学学报》及《华西医科大学学报》4家高校学报、中华医学系列及卫生部主办的实用医学系列为国家级期刊,自2000年1月1日起贯彻执行,特此告知广大读者和作者。