

# 纳米羟基磷灰石/聚酰胺复合人工椎板预防脊柱后路术后椎管内瘢痕粘连的实验研究

唐文胜<sup>1</sup>, 蒋电明<sup>1</sup>, 安洪<sup>1</sup>, 李帮春<sup>2</sup>, 孟纯阳<sup>1</sup>, 肖智博<sup>3</sup>, 徐兵<sup>1</sup>, 赵波<sup>1</sup>

(1 重庆医科大学附属第一医院骨科 400016; 2 重庆市第四人民医院骨科 400014;

3 重庆医科大学附属第一医院放射科 400016)

**【摘要】**目的: 探讨纳米羟基磷灰石/聚酰胺(nano-hydroxyapatite/polyamide-66, n-HA/PA66)复合人工椎板在防止脊柱后路术后椎管内瘢痕粘连, 重建脊柱后部结构完整性的价值。方法: 22只1岁龄雄性家犬行L5椎板切除, 实验组13只行复合人工椎板植入, 另9只作空白对照。术后4、8、16、24周各时相点摄X线片, 行组织学、扫描电镜观察; 术后24周行MRI检查。结果: 实验组术后16~24周复合人工椎板界面观察到软骨细胞及板层骨, 硬膜粘连程度比对照组明显减轻( $P < 0.01$ )。术后24周时MRI显示实验组椎管完整性恢复。结论: n-HA/PA66复合材料具有良好的生物相容性, 能有效阻止硬膜外粘连。

**【关键词】** 纳米羟基磷灰石; 聚酰胺66; 人工椎板; 椎板切除术; 犬

中图分类号: R318.08 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2005)-11-0675-04

An experimental study of nano-hydroxyapatite/polyamide-66 composite material artificial vertebral lamina on preventing the postlaminectomy scar formation and the dura adherence/TANG Wensheng, JIANG Dianming, AN Hong, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2005, 15(11): 675-678

**【Abstract】** Objective: To evaluate the effect of artificial vertebral lamina made from nano-hydroxyapatite/polyamide-66 (n-HA/PA66) on preventing the postlaminectomy scar formation and the dura adherence in the spinal canal, and constructing vertebral canal posterior elements integrity. Method: Of the 22 male dogs aged one year (13 in experimental group, 9 in control group) the L5 laminectomy were resected and the L5 lamina were reconstructed in the experimental group by implanting n-HA/PA66 composite material. The plain roentgenography, histology and scanning electron microscope were used at the 4th, 8th, 16th and 24th week respectively after the operation. MRI was undertaken at the 24th week. Result: At the 16th~24th week after the operation, the cartilage cell and lamellar bone were observed in the experimental group. Compared with the control group, the dura adhesion in the laminoplasty segment decreased significantly ( $P < 0.01$ ). The reconstructed segment retained the spinal integrity. Conclusion: n-HA/PA66 composite material not only has good biocompatibility, but also can effectively prevent the scar formation and dura adhesion.

**【Key words】** Nano-hydroxyapatite; Polyamide-66; Artificial vertebral lamina; Laminectomy; Dog

**【Author's address】** Department of Orthopedic Surgery, the First Affiliated Hospital, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing, 400016, China

椎板切除术是脊柱外科开展较多的术式, 但有些患者术后可出现“腰椎手术失败综合征”(failed back surgery syndrome, FBSS), 或“椎板切除术膜”(laminectomy membrane)。椎板切除术后

瘢痕的形成给再次手术时椎管暴露带来困难, 增加了撕裂硬膜、损伤神经根的可能性<sup>[1,2]</sup>。如何防止椎板切除术后硬膜周围粘连形成是迫切需要解决的问题。近年来国内外学者运用了很多材料和方法<sup>[3-5]</sup>, 但结果仍不太理想。作者采用纳米羟基磷灰石/聚酰胺(n-HA/PA66)制成人工椎板, 探讨其预防瘢痕形成和保持脊柱后部结构稳定性的价值。

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863计划)子课题(2002AA326020)

第一作者简介: 男(1967-), 主治医师, 医学硕士, 研究方向: 脊柱外科

电话: (023)89011212 E-mail: tangwensheng168@yahoo.com.au

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

20%纳米羟基磷灰石/聚酰胺复合材料由四川大学国家纳米生物医用材料产业孵化中心提供, 纳米 HA 晶体长约 70~90nm, 宽 10~30nm, PA66 的分子量为 20000 左右。制成弧形瓦片状, 有棘突, 表面光滑无微孔, 约 2.5×1.2×0.3cm。其抗压强度为 105MPa, 抗弯强度 90MPa, 弹性模量 3.2GPa。用常规高温高压消毒后备用。

1 岁左右雄性家犬 22 只, 体重 10±2kg, 由重庆医科大学动物中心提供。适应性饲养 1 周后, 随机分成 2 组, 实验组 13 只行 L5 椎板切除, n-HA/PA66 复合人工椎板植入, 对照组 9 只行 L5 椎板切除。

### 1.2 实验方法

速眠新 0.1ml/kg 肌肉注射麻醉, 动物取俯卧位, 四肢固定, 备皮消毒铺巾, 无菌术下取腰背部切口, 暴露 L4~L6 椎板, 咬除 L5 椎板下 2/3, 造成约 1.5×1.0cm 大小椎板缺损。保留完整硬膜, 保留小关节突关节, 彻底止血。实验组覆盖纳米羟基磷灰石/聚酰胺复合人工椎板, 并通过棘突间钻孔丝线捆扎固定(L4、L6、人工椎板棘突钻孔) 材料, 用生理盐水冲洗伤口, 软组织间紧密缝合, 关闭切口。对照组不行人工椎板植入直接缝合切口。术中及术后 2d 用青霉素 80 万单位肌肉注射, 同一条件下饲养。

术后 4、8、16、24 周 X 线摄片后分别处死实验组 2 只、对照组 1 只作大体、组织学观察, 8、16、24 周两组同时行 SEM 观察, 24 周时行 MRI 检查, 测量 L4~L6 椎管面积及 L5 椎管矢状径。同时根据 Rydel 瘢痕粘连程度评级标准<sup>[6]</sup>进行粘连级别判断记录, 并进行统计学分析。

## 2 结果

### 2.1 X 线摄片观察结果

术后 4 周, 人工椎板位置无移位, 与骨接触面有一透亮影, 对照组示 L5 椎板棘突缺损。术后 8 周, 人工椎板与骨接触面稍模糊, 无移位。对照组同前无变化。术后 16 周, 人工椎板与骨接触面模糊, 界面消失, 密度增高。对照组与前比较无改变。术后 24 周, 人工椎板与骨接触界面消失, 密度增高, 钙化(图 1)。对照组表现为 L5 椎板棘突缺损(图 2)。

### 2.2 大体观察

术后 4 周, 人工椎板表面有软组织膜完整包裹, 软组织易从其表面分离, 无移位突入椎管及硬膜粘连; 对照组椎板缺损处肉芽组织形成, 突入椎管与硬膜、骨组织粘连较紧密。术后 8 周, 人工椎板内层有厚约 3mm 浅白色质地较硬的组织形成, 但与硬膜无粘连; 对照组椎板缺损处纤维瘢痕与硬膜粘连。术后 16 周, 人工椎板内层表面有一层半透明的新生骨形成, 连接牢固, 未见纤维瘢痕组织突入椎管压迫硬膜; 对照组椎板缺损处纤维瘢痕向内压迫硬膜。术后 24 周, 人工椎板内层表面已形成完整的椎板样质硬骨组织, 未见硬膜粘连及受压; 对照组椎板缺损处未被新骨封闭, 瘢痕组织与硬膜粘连紧密, 硬膜受压。

### 2.3 组织学观察

术后 4 周, 人工椎板材料周围有排列紊乱的纤维细胞包绕, 骨端出现原始骨小梁、成骨细胞及少量类骨质形成, 新骨与材料之间被一层结缔组织分隔开来(图 3, 后插页)。对照组椎板缺损处软组织长入, 与硬膜粘连, 组织间血管增生不明显, 骨断端亦出现成骨细胞团(图 4, 后插页)。

术后 8 周, 包裹人工椎板内层的纤维组织-材料界面出现多处成骨细胞团, 骨小梁形成。对照组椎板缺损处被致密结缔组织充填, 横纹肌及纤维组织突入椎管, 纤维瘢痕与硬膜粘连。

术后 16 周, 人工椎板内层组织-材料界面出现骨小梁, 新生的骨组织基本封闭缺损处, 硬膜无粘连受压。对照组椎板缺损处仍被纤维结缔组织替代, 骨断端见少量编织骨生成, 瘢痕组织向内压迫硬膜。

术后 24 周, 人工椎板材料-组织界面有大量成骨细胞、成熟骨小梁、板层骨出现(图 5, 后插页), n-HA/PA66 碎块被纤维包裹, 未见硬膜受牵拉。对照组椎板缺损处未见椎板再生, 由纤维瘢痕组织填塞, 硬膜粘连受压(图 6, 后插页)。

实验组和对照组手术节段粘连程度见表 1, 实验组明显好于对照组( $P<0.01$ )。

### 2.4 SEM 观察

表 1 实验组和对照组手术节段粘连程度

分级	0	1	2	3	共计
实验组	8	3	2	0	13
对照组	0	1	2	6	9

注: 实验组与对照组比较  $P<0.01$

术后 8 周,人工椎板表面附着大量纤维组织,可见早期的成骨细胞、成纤维细胞。对照组见胶原纤维排列紊乱,粗细不均。术后 16 周,人工椎板表面有颗粒状结晶形成,有裂隙,可见软骨细胞,成骨细胞。对照组缺损处纤维组织结构紊乱。术后 24 周,人工椎板表面纤维组织附着,排列有序,纤维上有钙盐沉积,可见成骨细胞,骨小梁,材料表面比较光滑,无明显吸收降解的迹象(图 7,后插页)。对照组缺损处纤维排列紊乱(图 8,后插页)。

### 2.5 MRI 检查结果

术后 24 周,实验组人工椎板位置无移位,材料前方椎管侧有 2~3mm 厚骨组织影,硬膜无粘连受压(图 9)。对照组椎板缺损处软组织影,突入椎管与硬膜粘连,硬膜有受压征象(图 10)。

实验组与对照组 L4~L6 椎管面积测量结果

见表 2。实验组与对照组在 L5 椎管面积上比较有显著性差异( $P < 0.05$ )。在 L4、L6 椎管面积上比较无显著性差异( $P > 0.05$ )。各组 L5 椎管矢状径(卡尺测量,精确到 0.02mm)测量结果见表 3。实验组与对照组组之间有显著性差异( $P < 0.05$ )。

表 2 实验组和对照组 L4~L6 椎管面积测量结果 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	样本数	椎管面积(mm <sup>2</sup> )		
		L4	L5	L6
实验组	5	65.21 $\pm$ 7.79	70.34 $\pm$ 7.09	69.91 $\pm$ 8.66
对照组	4	68.18 $\pm$ 7.52	60.78 $\pm$ 4.46	74.93 $\pm$ 7.46

注: 与对照组比较  $P < 0.05$

表 3 实验组和对照组 L5 椎管矢状径比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	样本数(n)	L5 椎管矢状径(mm)
实验组	5	57.78 $\pm$ 0.59
对照组	4	46.8 $\pm$ 0.3

注: 与对照组比较  $P < 0.05$

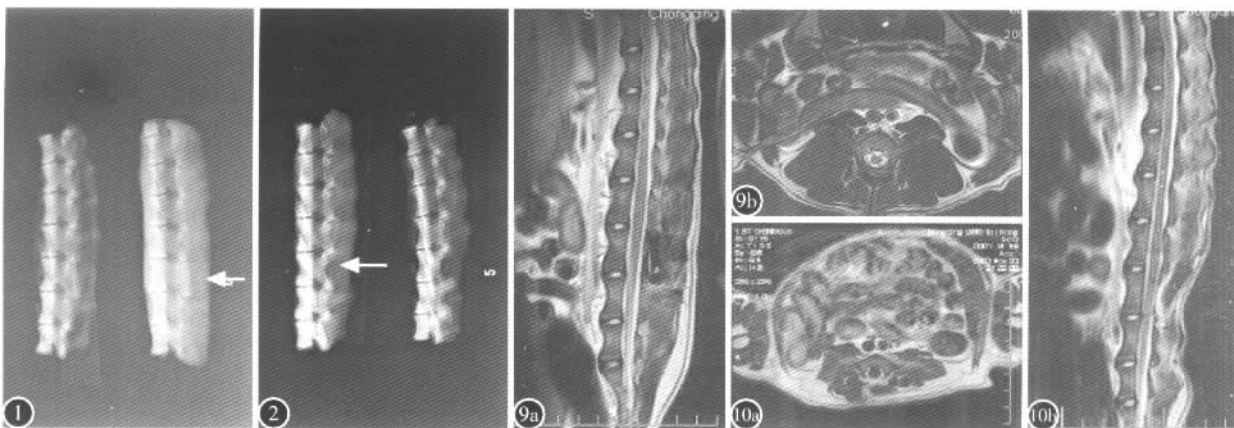


图 1 术后 24 周实验组人工椎板与骨接触界面消失,密度增高,钙化 图 2 术后 24 周对照组 L5 节段未见椎板棘突再生修复 图 9 术后 24 周实验组人工椎板形状位置好,椎管硬膜囊无受压(a 矢状位面 b 横切面) 图 10 术后 24 周对照组 L5 椎板缺损处瘢痕形成向前突入椎管硬膜受压(a 横切面 b 矢状位面)

## 3 讨论

### 3.1 椎板切除术后瘢痕形成及预防方法

椎板切除术是脊柱外科最常用的手术方式之一。据报道,在美国每年大约有 250 000 例实施椎板切除术/融合术,其中失败率为 5%~50%,平均失败率为 15%<sup>[7,8]</sup>。Burton<sup>[7]</sup>报道 6%~8% 的 FBSS 患者是由术后硬膜外瘢痕粘连及压迫神经组织导致的。Songer 等<sup>[9]</sup>研究发现,硬膜周围的纤维化既来自后方损伤的骶棘肌,亦来自前方损伤的纤维环和后纵韧带,同时前方的粘连会包绕神经根而导致侧方受累,从而首次提出了纤维化形成的三维立体学说。Touliatos<sup>[10]</sup>亦指出,合并血肿的软组织

创伤,无论存在于椎管的哪一个部位均会引起硬膜周围的纤维化与粘连。

考虑到瘢痕组织对硬膜囊及神经根粘连压迫,在硬膜与瘢痕组织之间建立起一层屏障是预防粘连的有效办法。因此如何寻找替代物,修补缺损,防止上述术后并发症的发生是迫切需要解决的问题。

### 3.2 n-HA/PA66 复合材料的生物学特点

李玉宝等<sup>[11]</sup>用共沉淀法研究了 n-HA/PA66 复合材料,通过常压共溶法获得了高纳米 HA 含量和分散均匀的复合材料。结果表明,纳米 HA 在这些复合材料中的含量可达 65%左右,接近自然



骨中磷灰石的水平,且 HA 以纳米级均匀地分散在 PA 基体中,在复合材料的两相界面间有化学键形成。此复合材料的性能,特别是抗压、抗弯强度和弹性模量与人体皮质骨类似<sup>[12]</sup>。

### 3.3 n-HA/PA66 复合材料的防粘连与成骨作用

本实验中, n-HA/PA66 复合材料周围有少量炎性细胞浸润,未见有毒性和排异反应,伤口愈合正常,无材料暴露和组织坏死,证实该材料生物相容性良好。此复合材料在抗压、抗弯强度和弹性模量上,与人体皮质骨类似,具有良好的物理性能。因而在植入椎板缺损部位固定后,对防止后方肌肉瘢痕向椎管的突入效果明显。MRI 检查见实验组椎管形态保持完好,椎管矢状径比对照组有扩大,未见材料断裂塌陷、突入椎管、压迫硬膜。对照组由于有瘢痕形成及肌肉突入,与硬膜粘连,硬脊膜受压。由于椎板材料有一定弧度,通过棘突间及周围组织固定,不会出现移位倾斜,对炎症物质、血肿渗入有明显效果,实验组粘连级别明显比对照组降低( $P < 0.01$ )。

在实验中还发现, n-HA/PA66 复合材料被一层纤维组织包裹,周围有成骨细胞出现,椎板缺损处有新生骨小梁生成,复合材料边缘少量细小 HA 碎块被包绕,说明材料 HA 晶体的刺激可使骨细胞活跃,提供晶核为新骨形成提供支架作用,发挥的是骨引导作用。对照组椎板缺损部位纤维瘢痕形成并与硬膜粘连,突入椎管的纤维瘢痕及横纹肌向内压迫硬膜,未见椎板再生。Dahlin<sup>[13]</sup>和 Urist 等<sup>[14]</sup>认为骨组织周围的结缔组织中的成纤维细胞等成分向骨缺损区生长的速度较有成骨能力的组织细胞快,骨生成和纤维生成之间存在竞争关系。16 周时,植入材料处缺损基本上被新骨修复,而对照组的缺损新骨形成量很少,而是大量的纤维结缔组织充填其中。这说明 n-HA/PA66 材料作为一种屏障能机械性的阻止成纤维细胞等周围结缔组织向缺损处的快速生长,将其阻隔在缺损区外,并引导迁移速度较慢的成骨细胞向缺损区内迁移,形成新骨。

n-HA/PA66 材料具有与皮质骨相近的力学性能,处于大范围皮质骨缺损处的材料修复后可传导正常的生物力,有利于新骨的形成和改建,从而为缺损处的功能和形态的完全恢复奠定了基础。在 24 周的实验过程中未观察到明显的材料吸收,这表明材料本身被组织吸收降解的速度很慢,

植入区有充分的时间进行骨组织的修复和改建,并且由于新生骨组织的长入和改建,在缺损区域最终形成的纳米人工骨-天然骨复合体的力学性能可得到进一步改善,从而达到功能和形态上的最佳修复。

## 4 参考文献

1. Lawson KJ, Malycky J, Berry JL, et al. Lamina repair and replacement to control laminectomy membrane formation in dogs [J]. *Spine*, 1991, 16(Suppl 6): 222-226.
2. Pospiech J, Pajonk F, Stolke D. Epidural scar tissue formation after spinal surgery: an experimental study [J]. *Eur Spine J*, 1995, 4(4): 213-219.
3. Hinton JL, Warejcka DJ, Wei Y, et al. Inhibition of epidural scar formation after lumbar laminectomy in the rat [J]. *Spine*, 1995, 20(5): 564-570.
4. 陈正形, 范善均, 沈康平, 等. 多孔磷酸钙人工椎板应用的实验研究 [J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 1998, 8(6): 326-328.
5. Bora H, Aykol SV, Akyurek N, et al. Inhibition of epidural scar tissue formation after spinal surgery: external irradiation vs. spinal membrane application [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2001, 51(2): 507-513.
6. Rydel NW, Balazs EA. Effect of intra-articular injection of hyaluronic acid on the clinical symptoms of osteoarthritis and on granulation tissue formation [J]. *Clin Orthop*, 1971, 80: 25-32.
7. Burton CV. Cause of failure of surgery on the lumbar spine: ten-year follow-up [J]. *Mt Sinai J Med*, 1991, 58(2): 183-187.
8. Cook SD, Prewett AB, Dalton JE, et al. Reduction in perineural scar formation after laminectomy with polyethylene membrane sheets [J]. *Spine*, 1994, 19(16): 1815-1825.
9. Songer MN, Ghosh L, Spencer DL. Effects of sodium hyaluronate on peridural fibrosis after lumbar laminectomy and discectomy [J]. *Spine*, 1990, 15(6): 550-554.
10. Toulitatos AS, Soucacos PN, Beris AE. Post-discectomy peridural fibrosis: comparison of conventional versus micro-surgical techniques [J]. *Microsurg*, 1992, 13(4): 192-194.
11. 李玉宝, 魏杰. 纳米生物医用材料及其应用 [J]. *中国医学科学院学报*, 2002, 24(2): 203-206.
12. Wang XJ, Li YB. Development of biomimetic composites of nano-hydroxyapatite and polyamide as a bone substitute [J]. *Chin J Biomed Engineer*, 2001, 10(5): 199-203.
13. Dahlin C, Linde A, Gottlow J, et al. Healing of bone defect by guided tissue regeneration [J]. *Plastic Reconstr Surg*, 1988, 81(5): 672-676.
14. Urist MR, Mclean FC. Recent advances in physiology of bone [J]. *J Bone Joint Surg (Am)*, 1963, 45: 1305-1313.

(收稿日期: 2005-07-18)

(英文编审 蒋欣)

(本文编辑 彭向峰)

# 纳米羟基磷灰石/聚酰胺复合人工椎板预防脊柱后路术后 椎管内瘢痕粘连的实验研究

(正文见第 675 页)

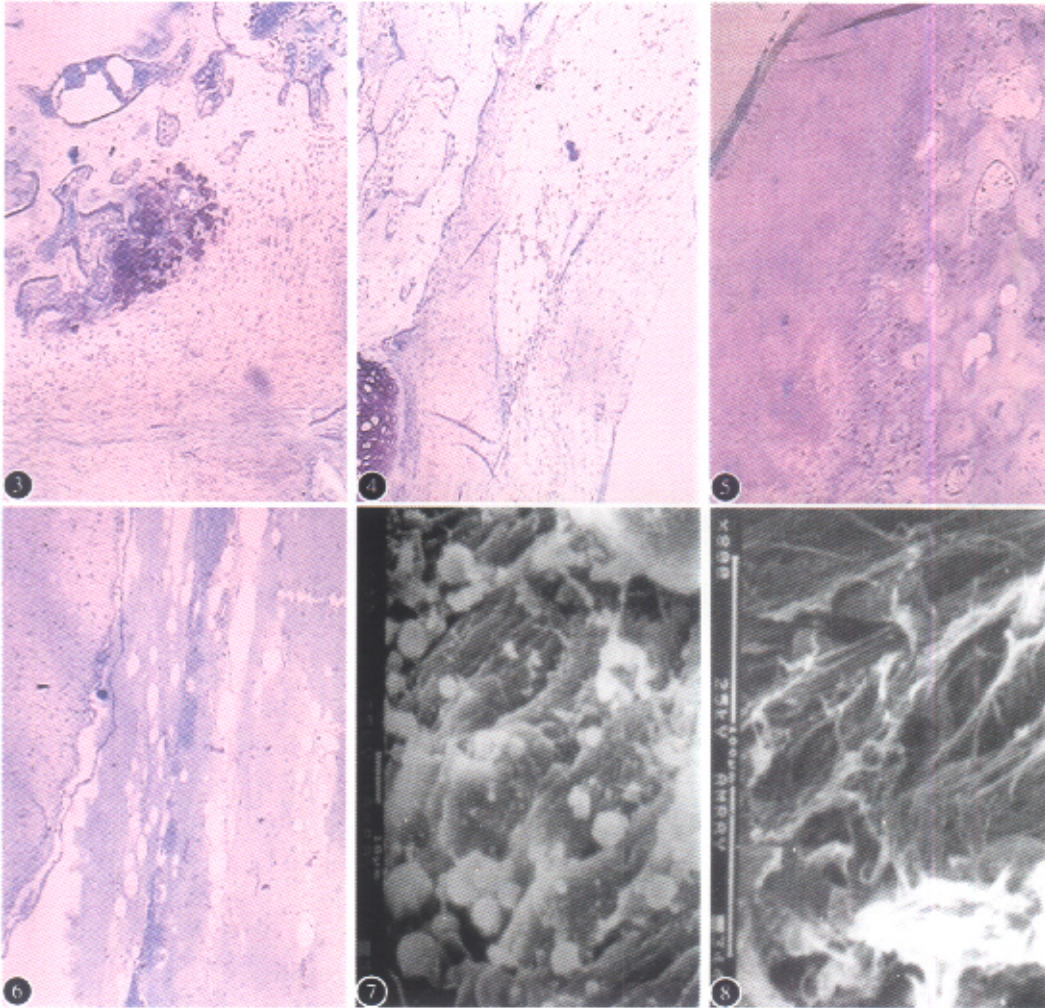


图 3 术后 4 周实验组可见成骨细胞团,少量类骨质形成(甲苯胺蓝  $\times 40$ ) 图 4 术后 4 周对照组纤维瘢痕与硬膜粘连、骨断端出现成骨细胞团(甲苯胺蓝  $\times 40$ ) 图 5 术后 24 周实验组人工椎板-组织界面可见成骨细胞、成熟骨小梁逐渐到板层骨(甲苯胺蓝  $\times 40$ ) 图 6 术后 24 周对照组示硬膜瘢痕粘连(甲苯胺蓝  $\times 40$ ) 图 7 术后 24 周实验组示胶原纤维增粗,有羟基磷灰石结晶附着(SEM  $\times 1000$ ) 图 8 术后 24 周对照组示纤维细胞排列紊乱(SEM  $\times 1000$ )

## 脊髓内多发性结核瘤伴脊髓空洞症 1 例报告

(正文见第 686 页)



图 2 病理检查示干酪样坏死