

自固化磷酸钙人工骨的最新研究进展

王文波¹ 综述 陈中伟² 陈统一² 审校

1(哈尔滨医科大学 第一临床医学院, 哈尔滨 150001)

2(上海医科大学 附属中山医院骨科, 上海 200032)

摘要 自固化磷酸钙(CPC)是数年前在美国研制成功的一种非陶瓷型羟基磷灰石类(HAP)人工骨材料。它克服了陶瓷型 HAP 烧结形成、修整困难等缺点,具有制备容易、使用方便等优点。1991 年以来,CPC 开始在临床试用,修复颅骨,获得满意效果。本文报告了 CPC 的最新研究结果,包括固化过程及固化工艺的研究,快速凝固型、抗水型 CPC 的研究,有机复合 CPC 水门汀的研究和作为载体缓释多种药物的体外试验结果等。随着研究范围的不断深入和扩大,CPC 有可能会成为未来非负重或低负重部位骨缺损修复的标准材料。

关键词 自固化磷酸钙 人工骨 研究进展

Latest Progress in Studies of Self-Setting Calcium Phosphate Cement

Wang Wenbo Chen Zhongwei Chen Tongyi

(Department of Orthopaedics, 1stClinical Hospital, Harbin Medical University, Harbin 150001)

Abstract Self-setting calcium phosphate cement (CPC) is a non-ceramic form of hydroxyapatitic artificial bone material (HAP) which was first exclusively produced in America several years ago. CPC is free from the drawbacks to ceramic HAP, including sintering and difficulties in shaping. CPC has the characteristics of simple-producing and easy application. In 1991, the clinical application of CPC to repairing the calvarial bone defects was approved, and the results reportedly so far were good or excellent. This paper presents the latest progress in the studies of CPC, concerning the probing into the setting process, the producing of fast-setting and non-decayed types of CPC, the studies of organic compound CPC, the in vitro results of CPC as a drug delivery system, etc. As the research goes on deeply and broadly, CPC is hopefully becoming a standard material in repairing bone defects at the non-or low-bearing site in the future.

Key words CPC HAC TTCP Artificial bone Advance

自固化磷酸钙,即磷酸钙水泥(Calcium phosphate cement, CPC),亦称羟基磷灰石水泥(Hydroxyapatite cement, HAC),是 80 年代中期由 Brown 和 Chow 研制出来的自固化型(self-setting)、非陶瓷型羟基磷灰石(HAP)类人工骨材料。它由磷酸钙粉末与固化液(重蒸水)组成,二者调和后,在室温或体内环境下自行固化转变成含微孔的 HAP 晶体。与 HAP 陶瓷相比,它除具有引导成骨和骨性结合的特点外,更具有制备简便、塑形容易和缓慢降解等优点,适合于非负重或低负重部位骨缺损的修复。作者曾就 CPC 最初十年的研究做了综述报道^[1]。近二年来,CPC 的研究迅速扩大和深入,进展很快,故本文再次综述 CPC 的研究成果及前一篇综述限于篇幅关系无法涵盖的内容。

1 固化工艺研究

CPC 的固相是几种磷酸钙盐的混合物,包括磷酸四钙(TECP)、无水磷酸氢钙(DCPA)或含 2 个结晶水的磷酸氢钙(DCPD)、羟基磷灰石(HAP)晶种,以及少量氟化物(氟化钠或氟化钙)。它的水化固化过程与普通水泥的固化反应有相似之处,其材料特性(凝结时间、强度、孔隙率、溶解度等)可受多种因素的影响,包括:(1)粉末中使用 DCPA 或 DCPD 的影响;(2)粉末颗粒大小的影响;(3)使用可溶性的氟化钠或不溶性的氟化钙的影响;(4)HAP 晶种(颗粒大小、比表面积等)的影响;(5)用水或稀磷酸或其它液体(血浆、血液等)作液相的影响;(6)固化液中的氟、背景电解质以及添加剂的影响等^[2]。Sanin 等^[3]观察了粉末颗粒大小对调和物(泥

浆)的 PH 值及固化体强度的影响。结果发现,颗粒大小对泥浆的 PH 值影响很大(控制了 DCP 和 TECP 的溶解率之故)。Otsuka^[4]报道了粉末颗粒大小与固化体强度的关系。所用的 TECP 的颗粒直径为 1.1~13.1 μm ,粉要中含有 40wt% 的 HAP 晶种。结果发现,当 TECP 及 DCPA 的颗粒均小时,反应物能完全转化为 HAP,固化体的强度高;当 TECP 与 DCPA 的颗粒均比较大时,不能形成 HAP,水化产物的强度很低。

另外,Chow 等^[5]用电镜观察了 CPC 固化过程中 HAP 的形态变化。发现晶体的大小及形状与反应物的组成、固化时施予的压力以及固化体的寿命(age)等均有关系,储存于水及人工唾液中的 CPC,其结晶度随着时间的延长而增加。

CPC 的强度与孔隙率密切相关,孔隙率的降低可使强度增加。Ishikawa^[6]实验了两种降低孔隙率的方法,一是采用不同的固液比(2.0~6.0),二是在固化过程中向模具内的 CPC 加压(0~173 MPa)。发现 CPC 的抗弯强度(tensile strength, DTS)随孔隙率的降低而增加,但是即使施予 173 MPa 的压力,固化体的孔隙率最大程度也只能降至 26%~28%,此时 DTS 亦达最大值 13~14 MPa。实验同时发现,固化时不施压的标本,在 HAP 晶体之间出现断裂,而施加过压力的标本,则在晶体内部出现断裂,且随着压力的增加,晶体内部断裂的程度亦增大。由于凭藉降低 CPC 孔隙率来提高固化本强度的方法较难实现,所以作者建议今后 CPC 的研究,除着眼于提高强度外,更应集中于如何促进骨的生长替代方面。

从目前的报道看,国外对 CPC 固化过程的研究尚有许多空白或不尽完善的地方。国内华东理工大学国家超细粉末工程研究中心的刘昌胜等,比较详细地研究了 CPC 固化中各种因素的影响,优化出抗压强度在 60~70 MPa、凝结时间为 5~15 min 且可自控的超细 CPC^[7]。

2 CPC 加固松质骨螺丝钉的研究

临床上广泛使用的 PMMA 骨水泥具有粘结固定假体的作用,Mermelstein^[8]则研究了用 CPC 加固松质骨螺钉。他先在 6 例犬离体的股骨远端拧入 15 枚松质骨螺钉,然后测量这些螺钉拉出时的拉力、位移、刚度及能量吸收等指标。然后将这些螺钉再拧入原骨孔内,螺钉周围填入 CPC 调和物。CPC 固化后,重复上述拉出试验,结果发现,CPC 能增加松质骨螺钉的固定作用。

3 快速凝固型、抗水型 CPC 的研制

虽然 CPC 具有可随意塑形的优点,但它的不足之处是凝结时间偏长、固化时过多的渗液会溶解调和物。凝结时间,一般地讲,是指从粉末调和至调和物具有一定的强度所需的时间。目前所用的 CPC,体外凝结时间是 15 min,凝固的环境条件是 37℃ 和 90%~100% 的相对湿度下。而在体内,因血浆中某些离子(如 Mg^{2+})及大多数的有机物均有阻止或延迟 HAP 形成的作用,而使其体内凝结时间较体外延长。这既不便于手术,又易使 CPC 调和物被溶解。为克服上这缺点,有人开始对 CPC 进行工艺改进。

Miyamoto^[9]报道了一种快速凝固型 CPC (Fast-setting CPC, FSCPC),它在大鼠肌肉内的凝结时间缩短至 5~7 min,而对照组 CPC(c-CPC)的凝结时间为 48 min。FSCPC 的改进之处在固化液,是由相同浓度的磷酸氢钠和磷酸二氢钠调和而成的中性磷酸钠溶液($\text{Na}_x\text{H}_3-x\text{PO}_4$)。X 射线衍射分析(XRD)证实,FSCPC 凝结时间缩短及强度提高的原因在于 HAP 的转化速度较 c-CPC 更快。作者认为 FSCPC 在骨科、整形外科及口腔颌面外科等都将有广泛的用途。

Ishikawa^[10]报道了在 FSCPC 基础上进一步地改善 CPC 的抗水性,称为不溃散型、快速凝固型 CPC(Non-decay type FSCPC, nd-FSCPC)。方法是在固化液中加入一定量的藻酸钠。结果发现 nd-FSCPC 调和后立即放入水中也不会溃散掉,并能正常固化;而 c-CPC 调和后放入水中,在 1 min 内即完全溃散。XRD 证实,藻酸钠的加入,对 FSCPC 转化为 HAP 无任何影响(因而凝结时间没有改变,仍为 5 min),并且在一定浓度范围(0~0.8wt%)内,随着藻酸钠的增加,CPC 的强度很快上升,当藻酸钠的量达到 0.8wt% 时,nd-FSCPC 的强度亦达最大值。以后随着藻酸钠的浓度超过 0.8wt%,CPC 的强度开始下降。藻酸钠的作用机理是它能与从 TECP 或 DCPA 中溶解的 Ca^{2+} 形成不溶于水的藻酸钙水凝胶,后者能较好地阻止 CPC 调和物不被水侵蚀而溃散。Ishikawa 同时提出了增强 CPC 抗水性的添加物应符合的 6 个条件,藻酸钠均完全或基本符合。

4 有机复合 CPC 水门汀的研究

CPC 最初是作为牙科水门汀(cement)材料研制出来的,但是作为水门汀,CPC 在凝结时间、固化体强度方面却不及目前临床上使用的聚酸锌水门

汀、氢氧化钙水门汀等。Rakkugi^[11]等实验发现, α -TCP 和 TECP 在有机酸(苹果酸等)中的凝结时间短、固体强度高,且反应后转化为 HAP。受此启发,Miyazaki 等观察了在多种有机酸中固化的 CPC 粉末的特点,旨在筛选出一种较 CPC 更佳的水门汀^[12]。所用的水溶性有机酸包括:明胶、聚乙烯醇(PVA)、聚丙烯酸(PAA)以及丙烯酸与乌头二酸的共聚物(PAIA)。结果发现,以明胶、PVA 为液相的水门汀,其凝结时间、固体强度与无机 CPC 相似,固化后有相当多的 HAP 形成。后两种聚链烯酸类(PVA, PAIA)水门汀,其固化反应明显加快,凝结时间缩短至 1 min,固体强度也较 CPC 显著提高。PAA 水门汀的 DTS 最大,为 11.7 MPa,PAIA 水门汀的抗压强度最高,达到 87.3 MPa,但这两种水门汀中,HAP 的形成均很少。由于有机酸中的酸根能与碱性的 TECP 发生快速的酸-碱反应,使水门汀很快地凝固成水凝胶,使得这种水门汀的调和物过于粘稠,凝结时间过短,极不便于临床操作。

为克服 PAA-CPC 水门汀的上述缺点,Miyazaki 进一步试验了在有机酸中加入几种添加剂,观察它们对 PCV-CPC 固化的影响^[13],所用添加剂包括磷酸三钠、氟化物(氟化亚锡、氟化铝、氟化钛)、酒石酸、醋酸钙、甲基丙烯酸钙、硫酸钙及二氧磷基醋酸。结果发现:①磷酸三钠和氟化物使固化反应变慢(延迟),并且随着浓度的增加,PCV-CPC 的强度降低;②醋酸钙、甲基丙烯酸钙、硫酸钙及二氧磷基醋酸也可使 PCV-CPC 的强度增加;③联合使用 8% 的氟化亚锡和 10% 酒石酸,可使 PCV-CPC 的凝结时间及强度均明显改善,凝结时间 > 2 min, DTS 达到 10.5 MPa,抗压强度达到 71.9 MPa,与目前市售的聚羧酸锌水门汀的强度相同或相当。

上述有机酸水门汀的缺点仍是由于快速的酸碱反应,使水门汀的凝结时间缩短,不便于使用。为此,Matsuya^[14]改用了一种不太活泼的多元酸,聚甲基二乙基醚与顺丁烯二酸的 1:1 共聚体。该共聚体可以通过醚基团的水解作用而被溶解于水中,形成相应的缩苹果酸共聚体(PMVA-Ma)。PMVA-Ma 具有很好的生物相容性,被用作外科粘合剂、粘膏等。实验发现,PMVA-Ma 水门汀保持了有机酸水门汀的较高的机械强度,同时其凝结时间延长至 30min 以上(长于对照组的 CPC)。作者认为由于该水门汀的早期的固化强度高,故仍可能有许多临床用途。PMVA-Ma 水门汀的硬化(固化)机理是 PMVA-Ma 中的羧基基团与 TECP 间的离子交换或酸碱反

应,生成不溶性的多元酸盐(polysalt)。由于生成的多元酸盐包被了 TECP 和 DCPA 颗粒,阻碍了它们溶解于水中并进一步地转化为 HAP,因此 XRD 分析水门汀固化体,未见 HAP 衍射峰的存在。由多元酸盐构成基质结构的水门汀,与聚羧酸类水门汀和玻璃离子体水门汀相似,它的充填相是未反应的 TECP 与 DCPA,二者也具有较好的生物相容性。

5 作为药物的缓释载体

严重的开放性骨折并发感染的几率很高^[15]。这种情况下,骨折处的血液循环均遭到严重的破坏,全身应用抗菌素时,骨折局部的有效药物浓度较低,难以达到预防和治疗感染的目的。PMMA 曾作为药物的释放载体及填充物用于这类骨折的填充,并收到一定的效果。但由于 PMMA 尚存在许多缺点,如聚合时放热、残留单体的毒性以及不能被吸收等,使其难以成为理想的释放介质。Yu 等^[15]的实验表明,CPC 具有较好的药物控释作用。他使用头孢氨苄与氟哌酸二种药物,分别与 CPC 调和物复合,并塑成球状(直径 1.4cm)。固化后放入磷酸缓冲液介质中测定不同时间释放的药物量。结果,复合头孢氨苄的 CPC,持续释放药物达 45~60 h,60 h 后时-量曲线变得水平(此时将 CPC 小球取出研碎,未检出头孢氨苄的残留);复合氟哌酸的 CPC,持续释放药物达 250 h(观察时间)。作者认为完全释放出氟哌酸需要 3 周。XRD 证实,两种药物复合后对 HAP 的转化无影响。采用最小二乘法分析发现,上述药物释放模型符合 Higuchi 方程,药物的释放为弥散过程控制,释放率依赖于 CPC 的孔隙率(porosity)。

骨的形成与吸收受多肽类物质(如生长素、BMP)等的调节,二者关系密切。因此 Otsuka^[16]以两种多肽物质(牛胰岛素与牛白蛋白)为例,观察了它们与 CPC 复合后的释放特点,所用实验模型与前述^[15]相同。结果发现,复合后的 CPC 强度降低,表明在 CPC 的固化过程中,HAP 晶体的生长受到两种多肽类物质的影响。在实验最初的 100 h 内,药物释放很快,以后变得缓慢。白蛋白组的最大释放率为 15%(95h),胰岛素组为 50%(500h)。二种药物的释放在 Higuchi 图中呈直线,表明二者的释放率也依赖于药物在 CPC 孔内的弥散程度。胰岛素的弥散系数大于白蛋白,因而前者的释放率大于后者。在所用的载体的几何结构不变的情况下,弥散系数即与药物的摩尔质量有关。与 Yu^[15]的实验中复合的头孢氨苄相比,白蛋白的摩尔质量大于头孢氨苄,因而

后者的释放率约为前者的 20 倍。

在随后的研究中, Otsuka^[17]发现, 固化液的比例高时, 固化体的孔率亦高, 二者之间呈正比关系。同时药物(阿斯匹林)的释放率随孔率的增加而增加, 但此二者之间却不是简单的直线关系, 它还与药物在 CPC 孔内的弥散程度有关。进一步的研究表明, 在固化液较高(固液比为 0.35)的一组(D组)中, 药物释放率是固化液较低(固液比为 0.25)一组(A组)的 20 倍。原因是 D 组中 CPC 的微孔直径为 0.5~1.0 μm , 而 A 组的 CPC 内部微孔相当细小, 多不足 0.01 μm , 说明微孔的结构(大小)能控制药物在孔隙内的弥散程度, 进而控制了药物的释放率。

此外, Otsuka^[18,19]还报道了 CPC 为载体, 消炎痛及 6-MP 为释放药物的结果。发现复合前消炎痛具有 γ -型晶体结构, 而复合后, 则转变为非晶体结构。消炎痛的释放率也与它复合的量有关。2% 和 5% 复合量的 CPC, 分别于 170 和 390 h 后释放出 95% 的药物。在 Higuchi 图中, 时-量曲线呈直线达 90%, 表明该药物的释放率也与其在 CPC 基质内的弥散度有关。另外发现, 消炎痛的释放率与 CPC 小球的厚度无关, 表明 CPC 是均匀基质释放系统(mnolithic matrixsystem), 药物是从微孔内通过弥散作用而释放的。

在复合抗癌药 6-MP 的实验中, Otsuka^[19]分别测定了从 CPC 小体的 2 个平面及整个平面释放的药物情况。同样发现, 在两种具有不同几何平面释放系统中的药物释放率均随着固化液比例的增大而增加, 药物释放率常数与加入的固化液量之间呈直线关系。药物和释放形式遵循 Higuchi 和 Cobby 公式。作者此次采用压汞法测定了在不同的固化液比例的情况下, CPC 内部孔隙的总体积, 进一步证实了以往实验的结论, 即所用固化液量的不同所致的药物释放率的差异, 源自于 CPC 内部的孔隙不同而引起的药物在其中的弥散程度不同而引起。

总之, 随着 CPC 研究范围的不断扩大、制备工艺的进一步优化和临床研究的逐渐深入, 相信 CPC 很可能成为未来非负重或低负重部位骨缺损修复的标准材料。

参 考 文 献

- 王文波, 陈统一, 陈中伟. 羟基磷灰石水泥人造骨的研究进展. 中华创伤杂志, 1997; 13(2): 127
- Fukase Y, Eanes ED, Takagi S *et al.* Setting reactions and compressive strengths of calcium phosphate cements. J Dent Res, 1990; 69: 1852

- Sanin N, Takagi S, Chow L C *et al.* Particle size effects on pH and strength of calcium phosphate cement. J Dent Res, 1991; 70: 567
- Otsuka M, Matsuda Y, Suway *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
- Chow L, Takagi S, Sugawara L *et al.* X-ray diffraction and electron microscopic characterization of calcium phosphate cement setting reactions. J Dent Res, 1987; 66: 90
- Ishikawa K, Asaoka K. Estimation of ideal mechanical strength and critical porosity of calcium phosphate cement. J Biomed Mater Res, 1995; 29(12): 1537
- 刘昌胜. 新型骨修复材料——磷酸钙骨水泥的制备及其应用基础研究. 华东理工大学博士学位论文, 1996: 5
- Mermelstein L, Chow L C, Friedman C *et al.* The reinforcement of cancellous bone screws with calcium phosphate cement. J Orthop Trauma, 1996; 10(1): 15
- Miyamoto Y, Ishikawa K, Fukao H *et al.* In vivo setting behaviour of fast-setting calcium phosphate cement. Biomaterials, 1995; 16(11): 855
- Ishikawa K, Miyamoto Y, Kon M *et al.* Non-decay type fast-setting calcium phosphate cement; composite with sodium alginate. Biomaterials, 1990; 16(7): 527
- Rakugi M, Komura T, Otsuchi T *et al.* Properties of tetracalcium phosphate-citric acid complex cement. J Dent Res, 1989; 68: 945
- Miyazaki K, Horibe T, Antonucci JM *et al.* Polymeric calcium phosphate cements; analysis of reaction products and properties. Dent Mater, 1993; 9: 41
- Miyazaki K, Horibe T, Antonucci JM *et al.* Polymeric calcium phosphate cements; setting reactin modifiers. Dent Mater, 1992; 9: 45
- Matsuya Y, Antonucci JM, Maatsuya S *et al.* Polymeric calcium phosphate cements derived from poly(Methy vinyl ethes-Maleic acid). Dent Mater, 1996; 12: 2
- Yu DC, Wong J, Matsuda Y *et al.* Self-setting hydroxyapatite cement; a novel skeletal drug-delivery system for antibiotics. J Pharm Sci, 1992; 81(6): 529
- Otsuka M, Matsuda Y, Suwa Y *et al.* Anovel 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
- Otsuka M, Matsuda Y, Suwa Y *et al.* Anovel skeletal drug-delivery system using self-setting calcium phosphate cement. 4. Effects of the mixing solution volume on the drug-release rates of heterogeneous aspirin-loaded cement. J Pharm Sci, 1994; 83(2): 259
- Otsuka M, Matsuda Y, Suwa Y *et al.* Anovel 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
- Otsuka M, Matsuda Y, Fox JL *et al.* Anovel skeletal drug delivery system using self-setting calcium phosphate cement. 9. Effects of the mixing solution volume on anticancer drug release from homogeneous drug-load cement. J Pharm Sci, 1995; 84(6): 733