

# 生物活性骨的新型制备方法研究\*

陈中中 李涤尘 卢秉恒 孙明林

(西安交通大学机械工程学院 西安 710049)

**摘要:**提出了一种制备人工生物活性骨的新方法并建立了相应的工程化制造系统。利用该系统所制作出的人工骨外形与被替代骨一致,内部具有模拟真实骨组织微管系统结构,并通过复合骨生长因子使其具有生物活性,弥补了传统生物填充材料由于缺乏活性而无法实现骨诱导的缺陷。动物试验的结果表明,所制作出的人工骨内部哈佛管与浮克曼管的仿真结构为新生骨细胞的三维并行生长提供了理想的空间条件,有效地促进了人工骨的快速活化。

**关键词:**快速成形 人工骨 生物活性

**中图分类号:**TH12 TB17

## 0 前言

具有生物活性的替代骨制备一直是骨科学领域重要的研究课题。近年来,羟基磷灰石(Hydroxyapatite,简称HA)类材料由于其良好的生物相容性和骨传导性能而被广泛地用作骨替代材料<sup>[1]</sup>。然而,由于内部缺少适当的微孔结构,利用该材料所制备的人工骨在植入后会限制组织液的渗透以及血液和营养物质的循环代谢,导致人工骨活化和新骨形成缓慢。

从组织工程学的角度来说,人工制造的骨替代材料必须具有适当的孔径和孔隙率才能用于骨修复,其微孔结构将有利于细胞长入和对材料的爬行替代,并对人工骨活化及新骨的形成起着决定性的作用<sup>[2]</sup>。目前人工骨内部微孔结构,一般是利用材料本身的多孔性,如珊瑚多孔羟基磷灰石(Coral porous hydroxy apatite,简称CHA)或采用高分子聚合物经发泡法来制备<sup>[3]</sup>,也有通过加入植物或金属纤维来提高材料内孔道的连通程度,但这些方法均存在着:无法保证孔隙间的导通性。无法较好地模拟与人体骨组织结构相类似的孔隙结构特征的缺陷。因此目前人工骨制造中所要解决的关键问题就是如何制作内部结构相互导通的微观仿真结构,以提供血运和良好的生物学性能。

本研究充分发挥了快速成形(Rapid prototyping,简称RP)在制造微细结构方面的技术优势<sup>[4]</sup>,并将其与材料和生物学技术相结合,旨在通过解决人工

骨内部微观仿生结构的制作及快速活化等问题,在人工骨工程化制造方面进行探索。

## 1 基于RP的人工生物活性骨制造技术路线

传统RP技术中的挤压或喷射工艺虽然具有较好的成形性能,但高温会破坏材料的生物活性。为解决成形与生物活性之间的矛盾,提出了一种基于RP技术,利用溶解骨负型托架的方法来制造生物活性骨,获得了较为理想的内部三维孔隙结构。

首先通过CT扫描获得骨骼断层数据,由仿生CAD软件完成仿真结构设计及生成相应的分层加工文件;再利用自行研制的改性乳化糖(Modified sucrose,简称MS-1)可降解生物材料作为成形丝材,在人工骨专用成形设备上制作出相应的骨负型模型,再通过组织工程方法将骨形态发生蛋白(Bone morphogenetic protein,简称BMP)等生长因子复合在内部的三维网架上,然后在网架的孔隙中常温固化的自凝固磷酸钙骨水泥(Calcium phosphate cement,简称CPC)生物材料,加固剂使其凝固成形,待完全固化后再将骨外腔模具负型溶解,使人工骨呈现出来。三维网架在植入体内后逐渐降解,降解后形成的空间管路即为骨组织的生长和组织循环提供理想的空间和孔道。网架上复合的骨生长因子发挥骨诱导活性,促进新骨生成。其技术路线如图1所示。

\*国家自然科学基金资助项目(50235020)。20021119收到初稿,20030430收到修改稿

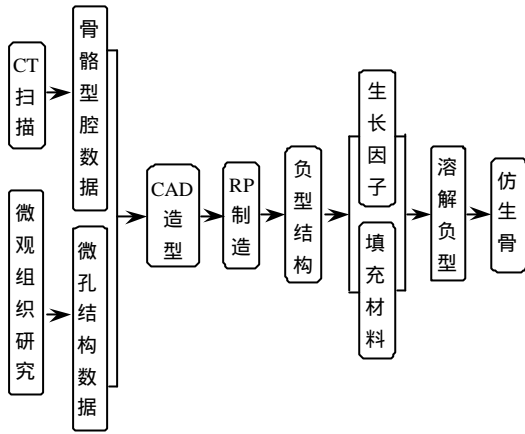


图 1 人工生物活性骨仿生制造技术路线流程图

## 2 人工骨实现方法

### 2.1 仿生 CAD 建模

仿生 CAD 建模技术是将 RP 与基于 CT 扫描数据的三维重构技术和骨组织学研究相结合，通过数学建模模拟显示骨骼外腔及内部微孔结构的三维仿真，并构造出相应的仿生 CAD 模型，为人工骨的制作提供加工数据。建模包括人工骨轮廓实体和内部微观结构建模两部分。轮廓实体建模主要包括外形轮廓和内部骨髓腔的三维重建，即通过医用 CT 进行断面扫描，获取骨骼外形和内腔数据，再通过图像处理软件重构出三维实体模型；并将其以 RP 通用格式 STL(Stereolithography)文件格式表达。(为简化设计，图 2 所示案例为用三维造型软件生成的一段狗桡骨实体模型)。



图 2 人工骨仿生 CAD 实体模型

人工骨内部微观结构的三维仿真是基于骨显微组织研究和解剖学分析的一种仿生 CAD 建模技术。骨组织的微观结构是一个复杂的立体形态，微管结构的走向和转角对骨细胞的生长和血管的爬入有重要作用。通过医学上对骨组织结构的研究来建立其微结构数学模型。图 3a 即为通过对狗桡骨内部微结构特征及其统计规律的研究，经抽象化后所建立的横断面仿生模型，图 3b 为量化后的数学模型。其中 1—骨髓腔，2—骨骼外壁，3—浮克

曼管，4—哈佛系统(骨单位)，对所建立的数学模型做出如下归纳。

(1) 骨单位与骨干长轴呈平行排列，中央为哈佛管。哈佛管与其周围环形排列的骨板层共同组成骨单位，亦称作哈佛系统。哈佛管的直径平均为 300 μm，大约 3~5 mm 长。骨单位之间通过浮克曼管相互连通，浮克曼管的直径平均为 200 μm。

(2) 骨单位的分布采用近似随机均匀分布。

(3) 骨单位的导通不仅包括同一截面内的骨单位的导通，还包括上下截面内不同骨单位间的导通。

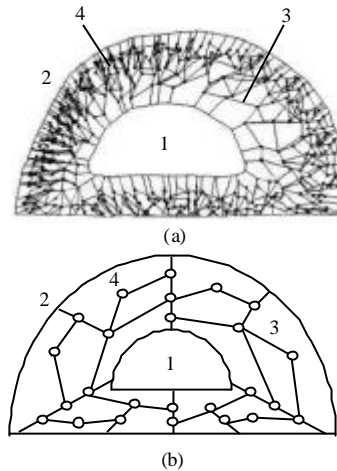


图 3 人工骨内部微管系统建模

通过将人工骨轮廓和内部微观结构设计相结合，构造出人工骨 CAD 负型模型，为进行人工骨的制作准备加工数据。

考虑到本课题主要是侧重于研究三维网架结构形式对成骨性能的影响，而不过高要求模拟骨骼内外腔轮廓的真实程度，另外从医学的角度来说，当替代骨植入体内后，中间部分会随着材料的降解和新骨的形成而自然形成孔隙。所以从可加工性、强度和植入骨整体性能等方面综合考虑，在三维网架的制作中忽略了骨髓腔的设计。图 4a 即为所设计的狗桡骨内部微管结构的 CAD 模型，图 4b 为用于加工的一层断面的 CAD 模型。

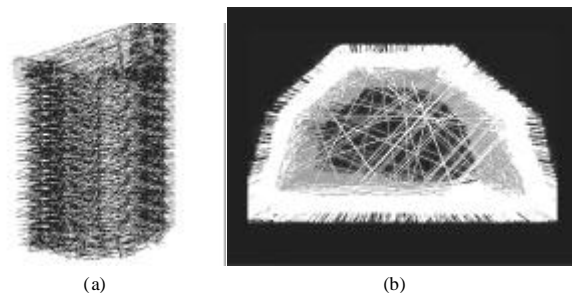


图 4 人工骨微细结构 CAD 模型

这一模型较为精确地反映了骨组织内部的微细结构特征，既符合骨组织组成部分的自相似特点，

也为仿生骨微细结构统一模型的描述和建立带来方便,并能够实现利用快速成形工艺在每个加工层面上逐层堆积,构造出内部三维网架的设计思想。

## 2.2 人工骨负型的制作

### 2.2.1 材料

根据医学要求,作为理想的可植入组织工程材料,应具有良好生物相容性、可降解性和适合的降解速度。而从快速成形的分层制造角度来看,则又要求所用材料具有良好的流变性、可塑性、一定的粘度和固化后不易收缩变形等特点。考虑到要保证制作出的三维网架结构在填充 CPC 及固化剂时不易坍塌,所以要求材料还应具有一定的力学强度和耐水性,即要求网架结构在 CPC 和固化液由填入、初步固化到完全硬化的过程中不会被溶解,而在植入体内后逐渐降解。

据此,选用了天然生物降解材料——蔗糖作为基材,研制出了新型可降解组织工程材料 MS-1。除了满足上述的要求外,该材料还可以保持 BMP 的活性。

### 2.2.2 成形系统

根据 RP 技术中熔融沉积造型(Fused deposition modeling,简称 FDM)的工艺原理,研制出了气压式熔融沉积快速成形系统(Air-pressure jet solidification,简称 AJS)来完成人工骨负型的制作(图 5)。

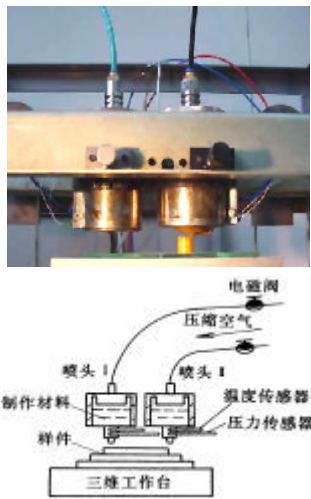


图 5 AJS 系统的喷头结构及工作原理图

骨负型的制作工艺过程为:首先将 MS-1 材料提纯后装入两个可控加热装置的压力喷头中,通过温控系统控制材料的塑性和流动性,使其处于良好的熔融状态,施加气压将材料从喷头底部 0.2 mm 的小孔内挤出,实现分层累加成形。在设定温度下由喷头成形人工骨外轮廓,当达到制作内部结构所需要的高度时停止加工,工作台迅速水平移至喷头

下,喷头温度较高,流量相对较大,调整三维工作台运动速度,按照微细结构模型的加工文件,逐点扫描形成很细的微管支架,构造出内部三维网架结构;这样重复交替控制双喷头工作,便可实现在一个模型的制作过程中,完成骨骼外形轮廓的逐层累积成形和其内部具有不同直径导管网架结构的一体化制造。

此外,由于 CPC 材料凝固后固化体的强度、材料的降解速度和成骨作用以及最终对成骨质量的影响都与其内部孔隙率密切相关,所以在制作人工骨负型时,应充分考虑其孔隙率(即三维网架所占整个骨负型的体积比)的大小。AJS 系统的一个显著优点就是通过控制工艺可以制备出不同孔径大小和孔隙率的三维网架结构,因此能够满足医学上对替代骨的降解速度与成骨速度相匹配的要求。根据 CPC 固化体孔隙率为 30% 的指标,人工骨负型的孔隙率应约为 20%,以使二者合成所得的人工骨实际孔隙率 50%,以便满足医学上替代骨孔隙率对成骨的激发效应和必要的抗压强度要求。图 6 即为按照 20% 孔隙率所制作的人工骨负型。

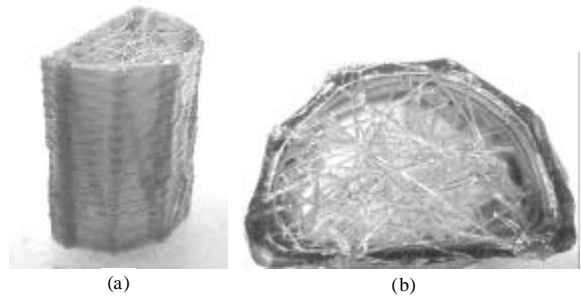


图 6 骨负型样件

### 2.2.3 工艺参数

AJS 系统的工艺参数较多且相互关联,其中,压力、温度和速度是决定出丝效果和成形精度的主要参数。当温度、压力一定时,出丝质量(流量)是一个固定值,扫描速度越快,成丝直径越细,但由于材料的固化机理和所要成形的各层上逐点扫描的距离不同,制作出的丝不可能无限细。因此,通过研究出丝速度和扫描速度(工作台运动速度)与 MS-1 材料成丝直径的关系,来实现不同直径导管网架结构的制作,是完成内部空间结构制作的关键。在三维网架的具体构造中,同一截面内骨单位间的导通可以直接通过逐点扫描来实现,而上下截面内不同骨单位间的导通则是依靠喷头在扫描过程中于拐点(哈佛系统)处的短暂停顿挤压丝材而成。图 7 即为通过调整工艺所制作出的三维网架纵向剖面图。所制作出的哈佛管和浮克曼管的平均直径分别为 300  $\mu\text{m}$ 、200  $\mu\text{m}$ ,符合骨组织中哈佛管及浮克曼

管的直径标准。

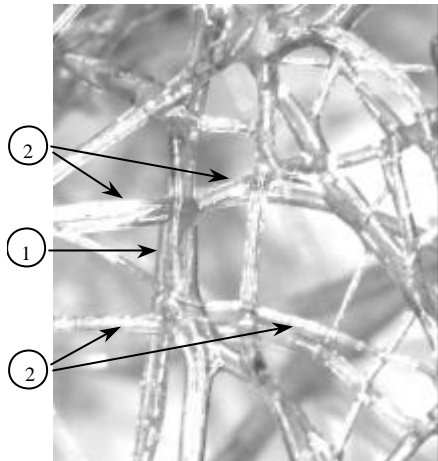


图 7 三维网架的微观结构 ×100  
1. 哈佛管 2. 浮克曼管

另外，模型几何数据处理、数控系统位置控制精度、温度波动以及气路通断时所引起的丝材流量的变化等因素都对成形精度有影响。具体工艺参数控制中，须通过出丝速度与扫描速度的实时匹配、控制环境温度和优化温控系统 PID 参数等措施来提高成形精度。

### 2.3 CPC 生物材料的填充

将 CPC 材料填充到网架结构的孔间隙中，并通过高频振荡来控制填充的疏密程度，以保证替代骨的强度和活性因子良好的吸附性能(图 8a)；再将 BMP 等生物活性因子溶解于固化剂里，逐步滴入 CPC 中，保证 BMP 均匀分散到整个多孔结构中，待 CPC 初步固化后将骨外形壁状负型材料剥离，完成人工骨的制备(图 8b)。

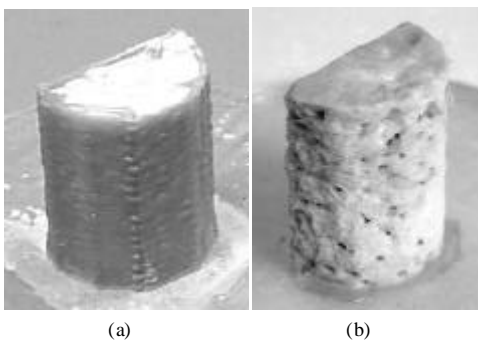


图 8 填充试验

### 3 动物试验及分析

为评价人工骨植入后的生物学性能和对成骨过程的影响，采用动物体内试验法，将人工骨植入犬桡骨骨缺损模型中(图 9)，通过 X 射线拍片及组织学分析等手段，观察人工骨对骨缺损的修复作用。

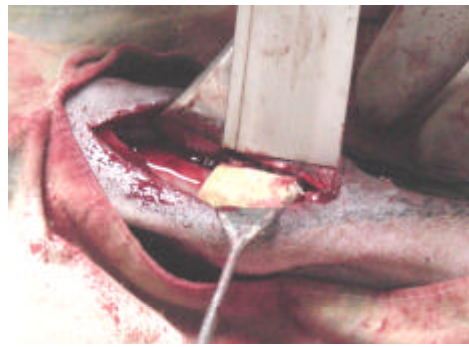


图 9 动物试验

术后 8 周，骨缺损处有大量桥接骨痂形成，材料出现明显降解(图 10)。试验结果表明，含有微孔结构的人工骨对新骨形成和骨缺损修复有明显的促进作用，试验组新骨形成显著高于不含微孔的对照组。



图 10 手术后和术后 8 周的 X 射线相片

### 4 结论

提出的生物活性人工骨工程化制造技术，实现了人工骨制作中成形、材料合成与生物活性物质复合三个过程的集成化。所开发的人工骨专用成形设备能够完成人工骨外轮廓和内部微管结构的一体化制作工艺，并可人为地控制微孔孔径大小和孔隙率。同时，通过生物活性因子的复合，使制作出的人工骨具有较好的骨诱导活性，为人工骨植入体内的迅速活化提供保障。

#### 参 考 文 献

- 1 Thomson R C, Yaszemski M J, Powers J M, et al. Fabrication of biodegradable polymer scaffolds to engineer trabecular bone. *Biomaterial*, 1995, 7 : 23 ~ 28
- 2 Lo H, Ponticelli M S, Leong K W. Fabrication of controlled release biodegradable foams by phase separation. *Tissue Engineering*, 1995, 1 : 15 ~ 28
- 3 Nerem R M, Sambanis A. *Tissue engineering : from biology to biological substitutes*. *Tissue Engineering* 1995,

1 : 3 ~ 12

- 4 卢秉恒, 唐一平, 王平. RP 技术与快速模具制造. 西安 : 陕西科学技术出版社, 1998

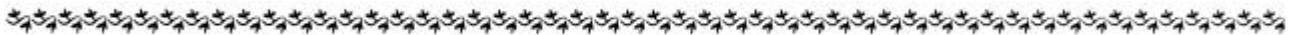
### STUDY ON THE NEW FABRICATION METHOD OF BIOACTIVE BONE

Chen Zhongzhong Li Dichen Lu Bingheng  
Sun Minglin  
(Xi'an Jiaotong University)

**Abstract :** A fabrication system for artificial bioactive bone manufacturing is set up. The artificial bone constructed in this system has the exact external form of the replaced bone and a

3D scaffold simulating the microvaso system of bone tissue in the interior. Through attaching the skeletal growth factor and viable cells to the 3D scaffold, the artificial bone can attain bioactivity. This approach can improve the traditional method that cannot realize osteoinduction because the filling biomaterial has not activity. The animal experiment results show that the interior simulation structures of the Volkmann's canal and Haversian canal can provide proper space for the 3D growth of the osteocyte and quick activation of the artificial bone, and hence can effectively speed up the quick activation of the artificial bone.

**Key words :** Rapid prototyping Artificial bone Bioactive  
作者简介: 陈中中, 男, 1973 年出生, 博士研究生。主要研究方向为快速成形制造以及仿生技术。



### 2003 年第 39 卷第 12 期专栏预告

纪念《机械工程学报》创刊 50 周年——“ 机械工程技术的历史、进展与展望 ” 主题征文

换热器中的场协同原则及其应用.....	过增元
气压位置控制系统研究现状与发展.....	王祖温 杨庆俊
安全生产与可持续发展战略和全面建设小康社会的目标.....	钟群鹏 范维唐 闪淳昌等
磁力机械研究综述.....	赵 韩 王 勇 田 杰
机械传动科学技术的发展历史与研究进展.....	秦大同
工程机械液压控制技术的研究进展与展望.....	王庆丰 魏建华 吴根茂等
汽车车身冲压工艺与模具关键技术研究.....	钟志华 黄文梅 杨沿平等
先进激光制造技术研究新进展.....	姚振强 Y. Lawrence Yao 王 飞等
刀具材料的历史、进展与展望.....	于启勋 朱正芳
超声波椭圆振动切削技术.....	马春翔 胡德金
连续退火炉内带钢的热态大挠度变形分析.....	戴江波 张清东 陈先霖等
水电站合拢焊缝接头形式研究.....	朱援祥 赵学荣 王 勤等
焊缝自动跟踪的发展现状与展望.....	吕学勤 吴毅雄 杨尚磊等
机构学 10 年来主要研究成果和发展展望.....	邹慧君 李瑞琴 郭为忠等