

基础研究

负载重组人骨形态发生蛋白 2 的 α 型半水硫酸钙/纳米羟基磷灰石复合植骨材料的成骨性能研究

罗有福, 高金鉴, 高浩然, 张恩尉, 薛为高, 文艳华, 钱济先

(第四军医大学唐都医院骨科 710038 西安市)

【摘要】目的:评价负载重组人骨形态发生蛋白 2(rhBMP-2)的 α 型半水硫酸钙/纳米羟基磷灰石(α -CSH/nHA)复合植骨材料的成骨性能。**方法:**制备可注射性 α -CSH/nHA/rhBMP-2 复合材料,取 12 只成年绵羊,分别经左侧椎弓根在 L1~L6 椎体上制作直径 6mm、深 15mm 的 6 个洞形缺损,第一只绵羊的椎体缺损随机分为 3 组,其余羊的椎体都按此进行分组,即 L2、L5 为实验组,L1、L4 为对照组,L3、L6 为空白对照组。实验组植入 α -CSH/nHA/rhBMP-2 复合材料;对照组植入可注射性磷酸钙骨水泥(CPC);空白对照组不植入任何材料。术后 4、8、12 周各处死 4 只动物,取椎体标本分别行 X 线及 micro-CT 扫描,观察缺损修复情况;行生物力学检查,测定椎体压缩强度和压缩模量;行组织学观察比较新骨生成率。**结果:**术后 4 周时,实验组压缩强度及压缩模量与 CPC 组的差异无统计学意义($P>0.05$),实验组和对照组均显著性高于空白对照组($P<0.05$);术后 8 周和 12 周时实验组和对照组均显著性高于空白对照组($P<0.05$),实验组显著性高于对照组($P<0.05$)。影像学及组织学结果显示,术后 4 周时,实验组复合材料大部分已降解,密度稍低于正常骨,可见大量纤细短小、尚未塑形的新生骨小梁,边缘有大量成骨细胞环绕;对照组 CPC 材料呈高密度充满整个缺损,未见明显降解吸收征象,材料与骨的界限明显,缺损边缘有少量幼稚骨小梁形成;空白对照组缺损较大,边缘整齐,几乎看不到有新骨生成。术后 8 周时,实验组复合材料完全降解,缺损内新生骨小梁数量增多,增粗变长,且开始早期塑形;对照组材料开始部分降解,在边缘和中心降解区可见明显新骨形成,新生骨小梁数量较实验组少;空白对照组缺损修复不明显,边缘只可见少量新生骨小梁。术后 12 周时,实验组缺损完全被新生骨小梁充满,骨小梁趋于成熟,结构与正常骨小梁相似,密度与正常骨接近,很难与正常部位区分;对照组 CPC 大量降解,只残留一小团块状和零星的材料,缺损边缘修复明显,新生骨小梁长入残余材料内,将其分割成岛屿状;空白对照组缺损依然较大,呈低密度影清晰可见,新骨生成很少。**结论:** α -CSH/nHA/rhBMP-2 复合材料在绵羊体内具有良好的成骨活性,是较好的微创植骨材料。

【关键词】重组人骨形态发生蛋白-2;半水硫酸钙;纳米羟基磷灰石;胸腰椎骨折;微创;绵羊

doi:10.3969/j.issn.1004-406X.2016.04.11

中图分类号:R318.08 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2016)-04-0348-06

Study of osteogenic properties of recombinant human bone morphogenetic protein-2 loaded α -hemihydrate calcium sulfate/nano-hydroxyapatite combined bone materials/LUO Youfu, GAO Jinjian, GAO Haoran, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2016, 26(4): 348-353

【Abstract】Objectives: To evaluate osteogenic properties of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) loaded novel α -hemihydrate calcium sulfate/nano-hydroxyapatite(α -CSH/nHA) combined bone materials. **Methods:** Injectable α -CSH/nHA/rhBMP-2 composites had been developed first, then 6 hole defects with 6.0mm in diameter and 15.0mm in depth were experimentally created in left pedicles of L1-L6 lumbar vertebrae in 12 adult sheep. Defects of the first sheep were randomly divided into three groups, and which was the standard of subsequent 11 sheep. The experimental group(L2, L5) was filled with α -CSH/nHA/rhBMP-2 composites, control group(L1, L4) with injectable calcium phosphate cement(CPC), blank group(L3, L6) with none material. After 4, 8 and 12 weeks, four animals were sacrificed and 24 vertebral specimens were taken respectively, then the followings were made respectively: X-ray and micro-CT imaging for observation of

第一作者简介:男(1987-),硕士研究生,研究方向:脊柱外科

电话:(029)84717710 E-mail:luoyf2015@126.com

通讯作者:钱济先 E-mail:qianjx@fmmu.edu.cn

repairing, and biomechanical examination for testing compression strength and compression modulus, as well as histological evaluation by comparing new bone formation rate. **Results:** Biomechanical results illustrated that after 4 weeks, the difference of compression strength and compression modulus between experimental group and control group was not significant ($P>0.05$), and both significantly higher than the blank group ($P<0.05$); after 8 or 12 weeks, they were also much higher than the blank group ($P<0.05$), the compression strength and compression modulus of experimental group were higher than those of control group ($P<0.05$). Radiographic and histological results indicated that after 4 weeks, the vast majority composites of the experimental group had yet degraded, the density was slightly lower than that of normal bone, and a large number of short and not-yet-shaping new bone trabeculae were found surrounded by many osteoblasts; the defect was full of high density CPC material in control group, with no obvious sign of degradation, the bone-material boundary was obvious, and a small amount of immature bone formatted at the edge of the defect; while the defect of blank group was large with neat edge, where the new bone formation was barely. At 8 weeks after operation, the degradation of combined materials in experimental was apparently complete, the new bone trabeculae within the defect became larger, thicker and longer, and started early shaping; in control group, CPC began to degrade partially, new bone formation was shown at the edge and central degradation area, which was less than that of the experimental group; on the contrary, the defect healing of blank group was not obvious, there was few new bone trabeculae at the edge. After 12 weeks, the defect of experimental group was completely filled with maturing new bone trabeculae, in which the structure and density were almost as the same as normal bone trabeculae, it was difficult to distinguish the defect area from normal site; while CPC was substantially degraded in control group, remaining only a small lump and some sporadic materials, and defect restoration was obvious at the edge, new bone trabeculae grew into the residual material, which were divided into series of island-like pieces; defects in blank group were still large, presented as clearly visible low density, with very little new bone formation. **Conclusions:** The α -CSH/ nHA/rhBMP-2 composite is a promising bone repair material for minimally invasive surgery, which performs outstanding osteogenic properties in vertebral defect of sheep.

【Key words】 Recombinant human bone morphogenetic protein-2; α -calcium sulfate hemihydrate; Nano-hydroxyapatite; Thoracolumbar fracture; Minimally invasive of surgery; Sheep

【Author's address】 Department of Orthopaedics of Tangdu Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an, 710038, China

胸腰椎骨折是常见的脊柱损伤,多由高处坠落、车祸以及骨质疏松引起。经皮椎体成形(PVP)、经皮椎体后凸成形(PKP)、经皮螺钉固定及常规钉棒系统内固定是常用的术式^[1],虽能有效恢复椎体前缘高度,减轻神经脊髓压迫,一定程度上维持脊柱稳定性,但难以恢复椎体内部压缩破坏的骨小梁结构,容易导致术后断钉断棒、椎体高度再丢失、后凸畸形,甚至再发骨折,进而压迫脊髓神经。我们设想在一期微创内固定的同时植入有效的植骨材料,以期修复压缩破坏的骨小梁,进一步增加内固定远期效果,但脊柱外科常用的可注射材料都难以满足骨小梁修复的需要。 α 型半水硫酸钙(α -CSH)是已成功应用于临床的生物活性陶瓷材料,骨传导性好,有一定的骨诱导作用,可注射性佳,同时是较好的细胞因子和药物控缓释载体,可完全生物降解,降解后形成的局部微

酸性环境和 Ca^{2+} 有利于促进新骨形成,但它降解过快,降解吸收速度明显快于新骨生成速度^[2]。羟基磷灰石(HA)有骨传导性,是较好的生长因子载体,但它难降解,纳米 HA(nHA)是骨组织的无机成分,生物相容性好,与微米级 HA 相比,有一定的骨诱导能力和降解吸收能力,硬度也得到一定提升^[3]。重组人骨形态发生蛋白-2(rhBMP-2)是骨诱导活性最强的生长因子,已成功应用于临床,能刺激间充质干细胞向成骨细胞和软骨细胞分化,并能促进其聚集和增殖,但单独植入体内易被体液稀释、蛋白酶代谢,必需适当的载体材料包埋缓释^[4,5]。结合单一材料的优缺点,采用优势互补,我们制备了负载 rhBMP-2 的 α -CSH/nHA 复合微创植骨材料,植入羊椎体缺损中,与临床常用的磷酸钙骨泥(CPC)进行对比,评价其修复椎体骨小梁的能力。

1 材料与方法

1.1 主要设备与实验材料

CMT6503 万能材料试验机 (深圳新三思公司);micro-CT (德国西门子公司);rhBMP-2、CPC (上海瑞邦公司); α -CSH (美国 Sigma 公司);二水硫酸钙 (CSD, 天津科密欧试剂公司);nHA (南京埃普瑞纳米公司);碘佛醇注射液 (江苏恒瑞制药有限公司);盐酸赛拉嗪注射液 (速眠新 II, 解放军农牧大学军事兽医研究所研制);绵羊由第四军医大学实验中心提供。粉末材料经 ^{60}Co (20kGY) 照射消毒后备用。

1.2 植骨材料的制备

1.2.1 α -CSH/nHA/rhBMP-2 复合材料的制备 按前期实验^[9]证实的复合材料最佳配比,称取 α -CSH 1.4g, CSD 0.4g, nHA 0.2g, 室温下物理混合成 2.0g 复合材料;按每克 α -CSH/nHA 携带 0.4mg 的比例称取 rhBMP-2 0.8mg, 加入 1.2ml 碘佛醇注射液中,震荡混匀直至溶解,4℃保存备用。术中将溶解有 rhBMP-2 的 1.2ml 碘佛醇注射液与 2g α -CSH/nHA 复合材料在 5ml 注射器针筒中混合成糊状,连接 12# 针头即可注入椎体缺损内。

1.2.2 CPC 的制备 称取 CPC 干粉 2.0g, 术中与原包装固化液调和成糊状后即可注入椎体缺损内。

1.3 骨缺损模型的制备及植骨材料的植入

选用 1 周岁龄健康绵羊 12 只,雌雄各半,体重 25~28kg, 俯卧位固定动物于手术床上,背部去毛后用 8% 硫化钠溶液脱毛,速眠新 II (0.1ml/kg) 肌肉注射麻醉,常规消毒、铺单。后入路后正中左侧旁开 2cm 纵形切开皮肤、皮下组织、椎旁肌,显露棘突、椎板、左侧横突根部、上关节突及椎间小关节,电钻连接直径为 6mm 钻头依次在 L1~L6 左侧横突根部与上关节突移行的椎弓根处钻取直径 6mm、深 15mm 的 6 个洞形缺损,第一只绵羊的 6 个椎体缺损随机分为 3 组,之后每只羊的椎体都按此进行分组。生理盐水冲洗骨屑,实验组注入 α -CSH/nHA/rhBMP-2 复合材料;对照组注入 CPC;空白对照组不注入任何材料。3 组均未使用内外固定。待材料固化后,彻底止血,依次缝合各层组织,动物分笼饲养,自由活动,正常饲喂。术前半小时及术后肌肉注射头孢唑啉钠 1.0g, 2 次/日, 3~5d。

1.4 主要指标检测

术后 4、8、12 周时分别处死 4 只动物,整体取出 L1~L6 椎体,剔除附着的软组织及后部结构,分别行 X 线和 micro-CT 扫描,每组 6 个椎体标本用自凝牙托粉填平椎体上下表面后在 CMT6503 万能材料试验机上测量压缩强度和压缩模量;2 个椎体标本经 10% 中性福尔马林固定、梯度酒精脱水、常规脱钙后石蜡包埋,沿缺损方向切片,改良丽春红染色,光镜下观察,用 Image-PRO PLUS 6.0 图像分析软件测量新生成骨面积和骨缺损面积,新骨生成率 (NB)=新生成骨的面积/骨缺陷面积 $\times 100\%$ ^[11]。在同一张片上随机选择 6 个视野按上述公式计算取得 6 个 NB 样本值,每个视野由 3 人分别观察计算后取均值。

1.5 统计学处理

所得数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 20.0 进行 One-way-ANOVA 统计分析,多组间方差分析存在统计学差异后组间两两比较采用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

所有动物术后 1h 内苏醒,3h 能站立,术后第 2 天可自行行走,术后活动、进食情况正常,无死亡。皮肤切口 10d 甲级愈合,无渗出、红肿等感染迹象,未出现脊髓神经受压症状。

2.1 影像学观察

术后 4、8、12 周时各组的 X 线和 micro-CT 扫描结果见图 1、2。术后 4 周时,实验组复合材料大部分已降解,与骨的间隙变模糊,有少量骨痂形成,密度稍低于正常骨;对照组 CPC 材料呈高密度充满整个缺损,未见明显降解吸收征象,材料与骨的界限明显,新骨生成较少;空白对照组缺损较大,骨缺损边缘整齐,无新骨生成。术后 8 周时,实验组复合材料完全降解,骨痂生长丰富,新骨生成较多;对照组材料开始部分降解,降解主要在缺损底部及材料边缘,其内可见明显新骨生成;空白对照组缺损修复不明显,边缘稍钝化。术后 12 周时,实验组缺损完全被新骨填充,骨小梁趋于成熟,塑形较好,很难与正常部位区分,密度与正常骨接近;对照组 CPC 大量降解,只残留小团块状和零星材料,缺损边缘修复明显,缺损体积进一步减小;空白对照组缺损依然较大,呈低密度影,缺损边缘有少量新骨生成。

2.2 生物力学测定

术后 4、8、12 周时各组椎体的压缩强度和压缩模量见表 1。术后 4 周时,实验组压缩强度及压缩模量与对照组的差异无统计学意义 ($P>0.05$),两组均显著性高于空白对照组;术后 8 周和 12 周时,实验组压缩强度和压缩模量显著性高于对照组和空白对照组 ($P<0.05$),对照组显著性高于空白对照组。

2.3 组织学观察

术后 4 周时,实验组即可见大量纤细短小,尚未塑形的新生骨小梁,边缘有大量成骨细胞环绕;对照组可见 CPC 材料完整存在,经脱钙后留下孔状孔隙,缺损边缘有少量幼稚骨小梁形成;而空白对照组几乎看不到新生骨组织。术后 8 周时,实验组缺损内新生骨小梁数量增多,增粗变长,且开始早期塑形;对照组 CPC 开始降解,降解主要从缺损中心和材料-骨界面处开始,在边缘和中心降

解区可见新骨形成,新生骨小梁数量较实验组少;空白对照组缺损修复不明显,边缘只可见少量新生骨小梁。术后 12 周时,实验组缺损已被新生骨小梁充满,骨小梁趋于成熟,与正常骨小梁的结构相差无几,新生血管和骨髓较多。对照组 CPC 大部分已降解,新生骨小梁长入残余材料内,将其分割成岛屿状;空白对照组 12 周时缺损依然清晰可见,新骨生成很少(图 3)。各时间点的新骨生成率见表 2。实验组各时间点的新骨形成率均显著高于同一时间点的对照组和空白对照组 ($P<0.05$),对照组显著性高于空白对照组 ($P<0.05$)。

3 讨论

胸腰椎骨折多由车祸、高空坠落等高能损伤引起,常合并胸腹腔脏器及神经脊髓损伤。及时准确固定椎体骨折,恢复脊柱稳定性,减轻神经脊髓

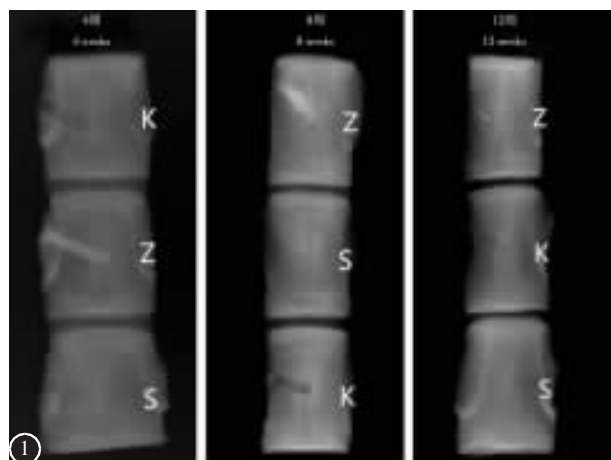


图 1 各组不同时间点的 X 线片(K 为空白对照组,S 为实验组,Z 为对照组) 图 2 各组术后不同时间点的 micro-CT 二维图像(沿缺损方向的横切面)

Figure 1 X ray images of each groups at different study period(K, Blank group; S, Experiment group; Z, Control group)

Figure 2 Two-dimensional micro-CT images of each groups at different study period after operation (horizontal along the defects direction)

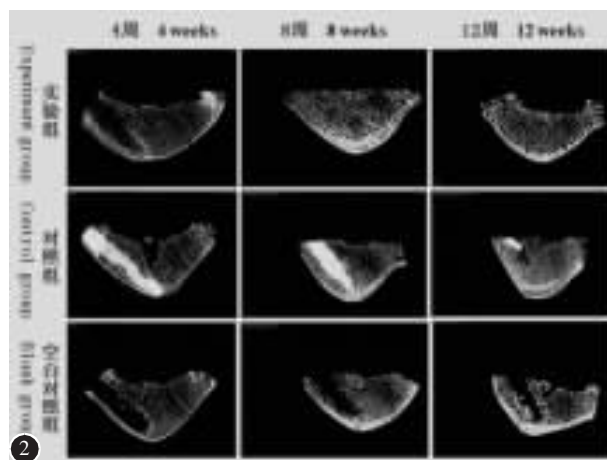


表 1 各组术后不同时间点的压缩强度和压缩模量 ($n=6, \bar{x} \pm s, \text{MPa}$)

Table 1 Compressive strength and Compressive modulus of each groups at different study period after operation

时间(周) Time(weeks)	实验组 Experiment group		对照组 Control group		空白对照组 Blank group	
	压缩强度 Compressive strength	压缩模量 Compressive modulus	压缩强度 Compressive strength	压缩模量 Compressive modulus	压缩强度 Compressive strength	压缩模量 Compressive modulus
4	7.31±0.53	793.85±96.35	7.39±0.64	795.18±89.5	4.96±0.29 ^{①②}	675.58±54.7 ^{①②}
8	10.68±1.01	884.98±98.91	8.58±0.51 ^①	803.71±86.0 ^①	5.27±0.42 ^{①②}	691.45±64.8 ^{①②}
12	11.98±0.73	935.84±63.37	9.32±0.39 ^①	820.45±94.8 ^①	6.18±0.56 ^{①②}	700.96±71.1 ^{①②}

注:①与同时时间点实验组比较 $P<0.05$;②与同时时间点对照组比较 $P<0.05$

Note: ①Compared with experiment group at the same study period, $P<0.05$; ②Compared with control group at the same study period, $P<0.05$

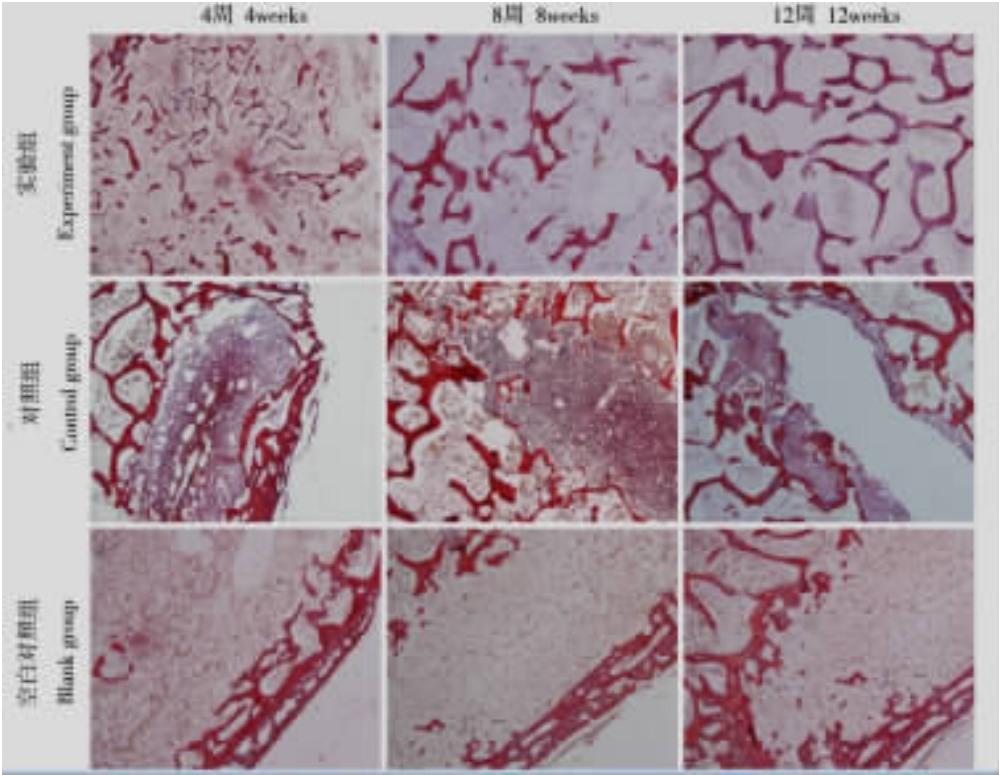


图 3 各组术后不同时间点的成骨情况(改良丽春红染色 ×10)

Figure 3 Histology photomicrographs of improved ponceau staining of bone defects (×10) for each groups at different study period after operation

表 2 各组术后不同时间点的新骨生成率
($n=6$, $\bar{x}\pm s$, %)
Table 2 New bone formation rate of each groups at different study period after operation

时间(周) Time(weeks)	实验组 Experiment group	对照组 Control group	空白对照组 Blank group
4	21.75±1.77	15.65±1.52 ^①	6.33±1.54 ^{①②}
8	32.56±2.49	20.88±1.81 ^①	8.65±1.92 ^{①②}
12	40.96±2.16	28.87±1.93 ^①	10.73±0.99 ^{①②}

注:①与同时间点实验组比较 $P<0.05$;②与同时间点对照组比较 $P<0.05$
Note: ①Compared with experiment group at the same time, $P<0.05$; ②Compared with control group at the same time, $P<0.05$

压迫和水肿显得尤为关键。近年来,随着脊柱微创技术的蓬勃发展,脊柱骨折手术也趋于微创化、智能化,越来越多的前路或前后路联合传统术式被后路经皮微创及腔镜下手术所取代,在微创内固定的同时,植入微创植骨材料,以增加前中柱稳定性并促进成骨。MISS 将传统手术与微创技术有机结合,能更好地保持脊柱正常的解剖结构完整,保留其生理功能,减少创伤,减轻术后疼痛的同时,能明显缩短住院和康复时间^[7]。脊柱微创植骨材

料需同时具备较好的可注射性、生物相容性、骨传导性和骨诱导活性,有一定的力学强度,可生物降解,凝固时间适当,显影性好。

α -CSH 降解产生的钙离子能增加骨缺损内局部钙离子浓度,并能有效刺激成骨细胞分化,进而促进新骨生成。CSH 和 nHA 的降解速率不同,随着 α -CSH 的不断降解, rhBMP-2 持续缓慢释放,留下的孔隙更有利于新骨长入,降解过程中,复合材料表面形成的类骨磷灰石层,可提高复合材料的生物活性^[2-8]。Masala 等^[9]采用 PVP 技术将 α -CSH/HA 复合骨水泥注入骨质疏松性压缩骨折的椎体中,发现其可注射性好,且刚度和骨组织相当,及时止痛和促进骨折稳定作用明显。Han 等^[10]采用负载自体血来源骨髓干细胞的 α -CSH/nHA 复合材料修复犬下颌骨缺损,证实复合材料组织相容性好,有较好的骨整合作用和成骨能力。Liu 等^[11]和 Chen 等^[12]通过实验系统研究了 α -CSH/nHA/胶原/rhBMP-2 复合微创植骨材料的可降解性、缓释特性以及体内成骨能力,发现其降解性能好,骨修复能力强, rhBMP-2 呈初始突释,术后 1d 释放率达 37.5%, 20d 释放完。本研究中实

验组术后 4 周和 8 周时新骨生成率显著高于其他两组,12 周时缺损几乎完全修复,而空白对照组缺损仍较大,修复不明显,表明复合微创材料具有较好的成骨活性,rhBMP-2 释放效果较好,且椎体缺损不能自然愈合。4 周时实验组压缩强度与对照组相近,这可能是由于复合材料已经大量降解,而新骨生成尚不成熟的缘故。到 8 周和 12 周时新骨生成较多,且逐渐成熟,压缩强度显著性高于对照组。而对照组所用的 CPC 是目前临床常用的椎体填充材料,从本研究结果可以看到,与 α -CSH/nHA/rhBMP-2 复合材料相比,CPC 修复椎体缺损远期效果较差,这可能是由于 CPC 降解较慢,影响新骨生成,术后 12 周时新生骨小梁数量相对有限。

在实验分组时考虑到不同椎体节段,生物力学特点存在差异,同时便于对同一组不同时间点进行观察比较,实验中植入材料时我们对第一只绵羊的 6 个椎体缺损随机分为三组,其随机分组结果为 L2、L5 为实验组,L1、L4 为对照组,L3、L6 为空白对照组,之后植入材料时每只羊的椎体分组都按此分组进行,以期将误差降到最低。CPC 虽然不是临床上修复骨质缺损的金标准,但它是目前有较好应用潜力的骨折填充材料,与 CPC 的对比可很好的说明实验材料修复椎体缺损的优越性。复合植骨材料最佳配比为: α -CSH 质量百分比为 70%,CSD 为 20%,nHA 为 10%,液固比为 0.6;每克复合材料加入 0.4mg rhBMP-2^[6]。

本研究绵羊作为实验动物,是因为它不仅是很有效的研究生物力学、椎间盘手术及骨折愈合过程的有效模型,同时也是研究人体脊柱疾患,评价脊柱植入物较好的体内模型^[13]。相关文献证实,直径为 6mm、深度为 15mm 的羊椎体缺损是研究材料在椎体上的成骨能力的经典缺损尺寸,小于该直径或深度过浅,椎体强度下降不明显,且有自愈倾向;大于该直径会影响脊柱稳定性,并增加骨水泥渗漏的风险^[14],本研究中我们选择绵羊作为实验动物,在其椎体上制作经典尺寸的洞形缺损,模拟椎体骨折评价实验材料的成骨活性。材料降解性能的定量描述,rhBMP-2 的释放情况以及更加合理的动物模型尚待进一步研究。

4 参考文献

- Mehbod A, Aunoble S, Huec JC. Vertebroplasty for osteoporotic spine fracture: prevention and treatment[J]. Eur Spine

- J, 2003, 12(Suppl 2): S155-S162.
- Campana V, Milano G, Pagano E, et al. Bone substitutes in orthopaedic surgery: from basic science to clinical practice[J]. J Mater Sci Mater Med, 2014, 25(10): 2445-2461.
- Pang KM, Lee JK, Seo YK, et al. Biologic properties of nano-hydroxyapatite: an in vivo study of calvarial defects, ectopic bone formation and bone implantation[J]. Biomed Mater Eng, 2015, 25(1): 25-38.
- Hassan AH, Hosny KM, Murshid ZH, et al. Depot injectable biodegradable nanoparticles loaded with recombinant human bone morphogenetic protein-2: preparation, characterization, and in vivo evaluation[J]. Drug Des Devel Ther, 2015, 9: 3599-3606.
- Mussano F, Ciccone G, Ceccarelli M, et al. Bone morphogenetic proteins and bone defects: a systematic review[J]. Spine, 2007, 32(7): 824-830.
- 罗有福, 潘建, 高浩然, 等. 新型 α -CSH/nHA 脊柱微创植骨材料的物理性能研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2015, 23(24): 2265-2270.
- 周跃. 脊柱前路微创手术面临的问题与挑战[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2011, 21(3): 177-178.
- Miyazaki T, Ishikawa T, Shirosaki Y, et al. Organic-inorganic composites designed for biomedical applications [J]. Biol Pharm Bull, 2013, 36(11): 1670-1675.
- Masala S, Nano G, Marcia S, et al. Osteoporotic vertebral compression fracture augmentation by injectable partly resorbable ceramic bone substitute (CeramentTMSPINESUPPORT): a prospective nonrandomized study[J]. Neuroradiology, 2012, 54(8): 1245-1251.
- Han X, Liu H, Wang D, et al. Alveolar bone regeneration around immediate implants using an injectable nHACCSH loaded with autogenic blood-acquired mesenchymal progenitor cells an experimental study in the dog mandible[J]. Clin Implant Dent Relat Res, 2013, 15(3): 390-401.
- Liu JH, Mao KZ, Liu ZS, et al. Injectable biocomposites for bone healing in rabbit femoral condyle defects[J]. PLoS One, 2013, 8: e75668.
- Chen ZG, Kang LZ, Meng QY, et al. Degradability of injectable calcium sulfate/mineralized collagen-based bone repair material and its effect on bone tissue regeneration[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2014, 45: 94-102.
- Wilke HJ, Kettler A, Claes LE. Are sheep spines a valid biomechanical model for human spines[J]. Spine, 1997, 22(20): 2365-2374.
- Zhu XS, Zhang ZM, Mao HQ, et al. A novel sheep vertebral bone defect model for injectable bioactive vertebral augmentation materials[J]. J Mater Sci Mater Med, 2011, 22(2): 159-164.

(收稿日期:2015-11-27 修回日期:2016-03-11)

(英文编审 唐翔宇/贾丹彤)

(本文编辑 卢庆霞)