

· 论著 ·

人工虎骨粉对大鼠骨折愈合的影响

寇玉辉 王天兵 邓磊 王艳华 韩娜 殷晓峰 张培训 张宏波 张殿英 姜保国

中图分类号: R683 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2011)07-0605-05

摘要: 目的 研究人工虎骨粉对大鼠骨折愈合的影响。方法 SPF级成年健康SD大鼠72只,麻醉状态下制作右侧胫中段骨折模型,模型制作完成后随机分为实验组和对照组,实验组术后每日灌服人工虎骨粉混悬液,对照组每日灌服蒸馏水。术后2周、4周、2月、3月分别进行影像学观察和组织学观察,术后2月、3月分别进行骨折侧生物力学测量、健侧生物力学测量,并计算骨折生物力学恢复率。结果 影像学检查:术后4周,实验组骨痂形成较对照组更广泛、明显;术后2月,实验组皮质骨形成较对照组多。组织学观察:术后2周,实验组骨痂中软骨细胞较对照组明显多;术后4周,实验组骨小梁数量较多,骨痂改建较好;术后2月,实验组骨折处皮质层较厚度对照组大。生物力学测量:术后2月,骨折侧生物力学和骨折生物力学恢复率对照组分别为 $2.28 \pm 0.41\text{N}$ 、 $40.94 \pm 10.55\%$,实验组分别为 $3.29 \pm 0.68\text{N}$ ($P < 0.05$)、 $58.85 \pm 11.22\%$ ($P < 0.05$);术后3月,骨折侧生物力学和骨折生物力学恢复率对照组分别为 $2.67 \pm 0.52\text{N}$ 、 $47.17 \pm 13.78\%$,实验组分别为 $4.14 \pm 0.47\text{N}$ ($P < 0.05$)、 $62.19 \pm 13.45\%$ ($P < 0.05$)。结论 人工虎骨粉具有明显的促进骨折愈合作用,并可有效提高正常骨生物力学强度。

关键词: 人工虎骨粉; 骨折; 生物力学; 大鼠; 实验研究

The effect of artificial tiger bone on fracture healing in rats KOU Yuhui, WANG Tianbing, DENG Lei, et al. Department of Trauma Orthopaedics, Peking University Peoples Hospital, Beijing 100044, China

Corresponding author: JIANG Baoguo, Email: jiangbaoguo@vip.sina.com

Abstract: **Objective** To study the effect of artificial tiger bone on fracture healing in rats. **Methods** 72 healthy adult SPF level SD rats were middle fractured at the right tibia under anesthesia, and randomly divided into experimental and control groups. The experimental group was fed by artificial tiger bone suspension daily and distilled water for the control group. The histological imagings were observed after 2 weeks, 4 weeks, 2 months and 3 months respectively. The biomechanical measurements at fracture side and the calculation of the recovery rate were performed after 2 month, 3 months each. **Results** Imaging: 4 weeks afteroperation, in the experimental group the callus formation is more extensive and obvious than the control group; 2 months postoperative, cortical bone formation in the experimental group more than control group. Histology: 2 weeks postoperative, in the experimental group the cartilage callus cells significantly more than the control group; while the experimental group show more trabecular bone volume and bone callus remodeling is better 4 weeks after operation; after 2 months, the experimental group, the fracture the thickness of cortical layers are better than the control group. Biomechanical measurements: 2 months afteroperation, the fracture mechanics and the recovery rate of the control group are $2.28 \pm 0.41\text{N}$ 、 $40.94 \pm 10.55\%$ respectively and the experiment group are $3.29 \pm 0.68\text{N}$ ($P < 0.05$)、 $58.85 \pm 11.22\%$ ($P < 0.05$); 3 months after operation, the fracture mechanics and the recovery rate of the control group are $2.67 \pm 0.52\text{N}$ 、 $47.17 \pm 13.78\%$ respectively and the experiment group are $4.14 \pm 0.47\text{N}$ ($P < 0.05$)、 $62.19 \pm 13.45\%$ ($P < 0.05$).

基金项目: 国家杰出青年科学基金(30625036), 国家自然科学基金(30801169), 国家自然科学基金(30971526), 国家自然科学基金(30973066), 北京市科技新星(A-2008-10), 首都医学发展科学基金(2007-2011) 国家科技部十一五科技支撑计划(2007BAI04B06)

作者单位: 100044 北京, 北京大学人民医院创伤骨科

通讯作者: 姜保国, jiangbaoguo@vip.sina.com

13.45% ($P < 0.05$). **Conclusion** The artificial tiger bone has a significant role in promoting fracture healing, and can effectively improve the strength of normal bone biomechanics.

Key words: Artificial tiger bone; Fracture; Biomechanics; Rat; Empirical study

由西安金花企业(集团)股份有限公司西安金花制药厂的人工虎骨粉(金天格胶囊)具有抗炎、追风、镇痛、健骨等功效,目前主要用于治疗骨质疏松、风湿等病症^[1]。2008年4月~2009年7月由我单位作为负责单位,开展的全国多中心临床研究中,对近200例骨折患者的初步应用结果显示,金天格胶囊对骨折愈合具有一定的疗效,为进一步确定人工虎骨粉的促骨折愈合作用,进行此研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物:SPF级成年健康SD大鼠72只,220~250g,购自北京大学人民医院动物中心。

1.1.2 人工虎骨粉(金天格胶囊):西安金花企业(集团)股份有限公司西安金花制药厂提供。

1.1.3 人工虎骨粉混悬液:取无菌人工虎骨粉胶囊粉剂和无菌蒸馏水,配置10mg/ml金天格胶囊混悬液,混悬液每日现用现配。

1.2 实验方法

1.2.1 动物模型制作:实验动物预适应环境1周,应用3%戊巴比妥钠3mg/kg腹腔内麻醉,暴露右侧胫骨,制作右侧胫中段骨折模型,0.88mm克氏针内固定,固定完毕后逐层关闭伤口。

1.2.2 动物分组 动物模型制作完成后按照抓阄法随机将动物分为对照组和实验组,每组36只。

1.2.3 药物灌服及药量计算:自动物模型制作完成后第2天开始灌服,其中对照组灌服蒸馏水、实验组灌服金天格胶囊混悬液。每日上午10:00~12:00,采用灌胃法灌服药物。灌药量按金天格胶囊临床使用量计算:灌药量 $1200\text{mg} \times 3 \times \text{大鼠体重}(\text{kg})/60 \times 10\text{ml}$ 。对照组灌服同样剂量无菌蒸馏水。

1.3 观察指标

1.3.1 一般情况观察:每日灌药前观察大鼠一般状态、活动情况,伤口愈合情况;术后1天、2周、4周、2月、3月各测量大鼠体重1次。

1.3.2 影像学检查:在动物模型术后2周、4周、2月、3月每组取出动物中随机选取6只,应用3%戊巴比妥钠3mg/kg腹腔内麻醉,进行X线检查,通过X线检查观察大鼠骨折骨痂形成、骨折愈合情况。

1.3.3 骨组织学观察:大鼠X线检查后,通过脱颈

法处死大鼠,迅速取材大鼠两侧胫骨,直视下观察大鼠骨折愈合情况,骨痂形态。随后将取出的双侧胫骨编号成对放入4%多聚甲醛固定1周,自来水流水冲洗24h,10%DETA(乙二胺四乙酸二钠)骨组织脱钙2月,流水冲洗24h,50%、70%、80%、90%、95%、100%梯度酒精脱水,二甲苯透明4h,石蜡包埋,10 μm 骨组织连续切片,55 $^{\circ}\text{C}$ 干燥12h,选取切片分别进行常规HE染色,显微镜下观察骨组织染色结果。

1.3.4 生物力学测量:术后2月和3月,选取6只大鼠,应用3%戊巴比妥钠3mg/kg腹腔内麻醉,脱颈法处死,完全剥离双侧胫骨,成对(骨折侧和对侧健侧)在岛津生物力学仪进行三点弯曲实验。三点弯曲实验采用如下指标:量程20N,最大两点间距20mm,弯曲下压位移速度0.1mm/s。

力学评价选用三点弯曲测量最大值作为评价指标,测量骨折侧、健侧三点弯曲力最大值,并根据测量最大值结果,计算骨折生物力学恢复率。

骨折生物力学恢复率 = 骨折侧力学测量最大值/健侧力学测量最大值 $\times 100\%$

1.4 统计学分析

采用SPSS 13.0软件对生物力学结果进行统计学分析, $P < 0.05$ 为统计学有明显差异。

2 结果

2.1 一般情况

所有实验动物制作动物模型过程顺利,没有出现麻醉意外死亡;术后大鼠活动正常,伤口处无感染,大鼠每日灌胃服药过程顺利。两组大鼠平均体重在术后1天、2周、4周、2月、3月无明显差异。

2.2 影像学检查

术后2周,对照组、实验组均可见明显骨折线,骨折线有少量骨痂形成。两组之间无明显差异;术后4周,对照组、实验组仍可见明显骨折线,骨折周围有明显的骨痂形成,实验组骨痂形成较对照组更广泛、明显;术后2月,对照组、实验组骨折线较4周时模糊,骨折两端骨质出现连续,骨痂较4周时变小。实验组可见骨折线处皮质骨形成较对照组增多;术后3月,对照组、实验组骨折线基本消失,两组之间无明显差异。见图1。

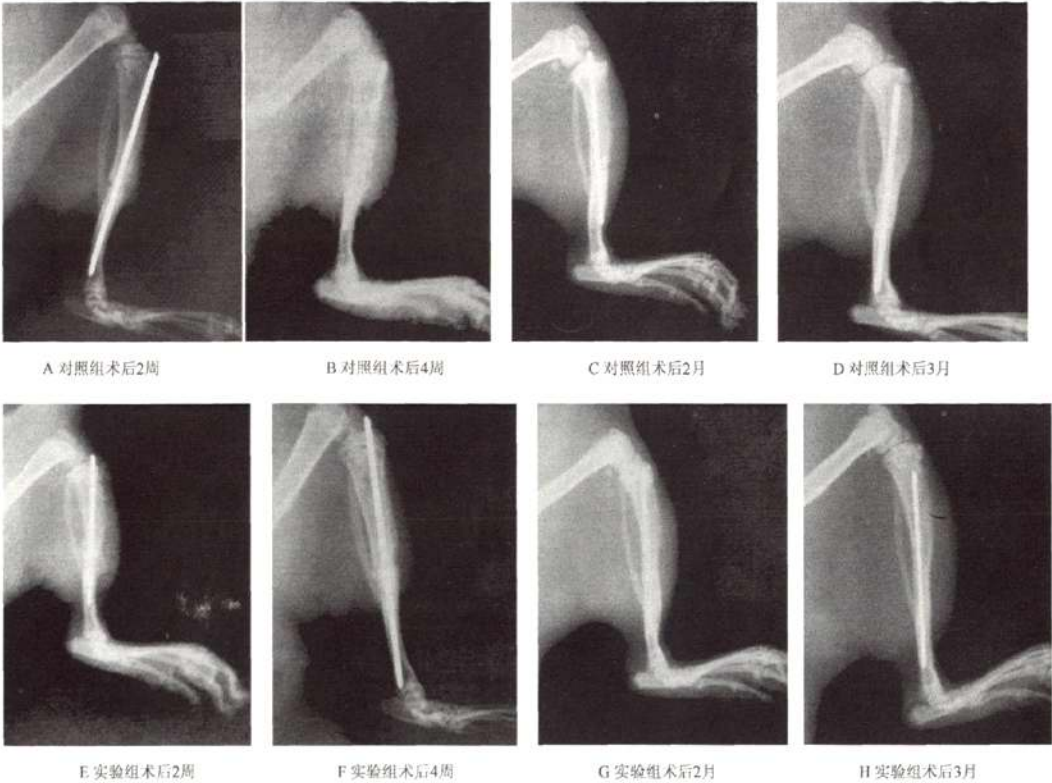


图 1 影像学检查结果

2.3 组织学观察

术后 2 周, 两组均可见骨折断端形成纤维骨痂, 骨痂内有大量成纤维细胞和软骨细胞, 其中实验组软骨细胞较对照组明显多; 术后 4 周, 两组均可见骨折断端间成骨细胞多, 可有成群聚集, 软骨细胞增生活跃, 并向骨细胞过渡, 有骨小梁形成, 实验组骨小梁数量较多, 切骨痂改建较好, 周边成骨细胞较多; 术后 2 月, 两组骨折处均称骨性连接, 实验组骨折处皮质层较厚度对照组大。术后 3 月, 两组骨折已基本完全愈合, 组织学观察基本相似。

2.4 生物力学测量

2.4.1 骨折侧生物力学测量: 术后 2 月, 对照组为 $2.28 \pm 0.41\text{N}$, 实验组为 $3.29 \pm 0.68\text{N}$, 两组比较差异具有显著性意义 ($P < 0.05$); 术后 3 月对照组为 $2.67 \pm 0.52\text{N}$, 实验组最大力平均值为 $4.14 \pm 0.47\text{N}$ ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 骨折侧生物力学测量(N)

组别	例数	术后 2 月	术后 3 月
对照组	6	2.28 ± 0.41	2.67 ± 0.52
实验组	6	$3.29 \pm 0.68^*$	$4.14 \pm 0.47^*$

注: 对照组与实验组相比* $P < 0.05$

2.4.2 健侧生物力学测量: 术后 2 月对照组平均值为 $5.85 \pm 1.71\text{N}$, 实验组平均值为 $5.63 \pm 0.88\text{N}$, 两组比较差异无显著性意义 ($P > 0.05$); 术后 3 月对照组为 $5.88 \pm 1.00\text{N}$, 实验组平均值为 $6.47 \pm 0.82\text{N}$, 两组比较差异无显著性意义 ($P > 0.05$), 见表 2。

表 2 健侧生物力学测量(N)

组别	例数	术后 2 月	术后 3 月
对照组	6	5.85 ± 1.71	5.88 ± 1.00
实验组	6	5.63 ± 0.88	6.47 ± 0.82

注: 术后 2 月和术后 3 月, 对照组与实验组相比健侧胫骨生物力学比较 $P > 0.05$

2.4.3 骨折生物力学恢复率: 术后 2 月对照组骨折生物力学恢复率平均值为 $40.94 \pm 10.55\%$, 实验组骨折生物力学恢复率平均值为 $58.85 \pm 11.22\%$, 两组比较差异具有显著性意义 ($P < 0.05$); 术后 3 月对照组骨折生物力学恢复率平均值为 $47.17 \pm 13.78\%$, 实验组骨折生物力学恢复率平均值为 $62.19 \pm 13.45\%$, 两组比较差异具有显著性意义 ($P < 0.05$), 见表 3。

表 3 骨折生物力学恢复率(%)

组别	例数	术后 2 月	术后 3 月
对照组	6	40.94 ± 10.55	47.17 ± 13.78
实验组	6	58.85 ± 11.22*	62.19 ± 13.45*

注:对照组与实验组相比 * $P < 0.05$

3 讨论

骨折愈合是一个复杂的生物学过程,其中包括成骨细胞的增殖、骨基质的形成,局部微循环和骨结构的重建等多种生物学反应。骨折愈合过程受到各种外在及内在因素的影响,促进骨折愈合的方法不一,机制各异,尚没有一种理论可以完全解释骨折愈合的所有问题。近年在探讨促进骨折愈合方法及机制方面的研究取得了令人瞩目的进展,研究发现骨生长因子(BMP)^[2]、 β -转化生长因子(β -TGF)^[3,4]、血小板衍生因子(PDGF)^[5]、类胰岛素生长因子(IGF)^[6,7]、成纤维细胞生长因子(FGF)^[8]、神经生长因子(NGF)^[9]等细胞因子,具有诱导成骨细胞再生、刺激骨细胞 DNA 和蛋白质合成、破骨细胞的影响,抑制骨吸收、提前血管重建,改善局部血运等,能够有效改善骨折愈合效果,部分因子已经应用于临床。但单一的细胞因子促骨折愈合作用点较少,且成本相对较高,在一定程度上降低了其临床应用范围。

祖国中医中药治疗骨折已有几千年的历史,近年来,有关中医中药促进骨折愈合的实验研究和临床研究都取得了较大的进展,单方中药鹿茸多肽^[10]通过促进骨、软骨细胞增殖及促进骨痂内骨胶原的积累和钙盐沉积而加速骨折愈合;杜仲^[11]能促进骨折断端矿物质的沉积、促进创伤性骨折的愈合;其他单方中药如丹红、丹参、土鳖虫等^[12]也均具有一定的促骨折愈合作用。复方中药密骨方^[13]、跌打散^[14]、仙灵骨葆^[14]、强骨胶囊^[15]等具有一定的促进骨折愈合、增加骨痂的形成、促进骨折局部钙盐沉积和增强骨强度等作用,能提高临床骨折患者骨折愈合。中医中药的辨证施治促进骨折愈合凸显出了它的独特优势,即疗效好,副作用小,治疗费用低等。多数研究证实中药促进骨折愈合有一定疗效,但目前关于中药促进骨折愈合的综合评估和机制研究仍不够全面,尚有待更规范、更严谨的研究。

本研究中的人工虎骨粉(金天格胶囊),目前主要用于治疗骨质疏松、风湿等病症治疗,多年的临床应用证实人工虎骨粉具有抗炎、追风、镇痛、健骨等功效^[17-18]。近年来,研究发现人工虎骨粉除具有上

述功效以外,对骨质疏松性骨折愈合具有促进作用,并能有效缓解骨折的疼痛^[19]。2008 年 4 月~2009 年 7 月由我单位作为负责单位,由全国各地 20 余家三级医院共同合作完成的全国多中心的四期临床药理试验结果证实金天格胶囊在镇痛、健骨上的疗效。该试验研究同时对近 200 例骨折患者进行药效学研究,结果显示,金天格胶囊对骨折愈合具有一定的疗效。本实验研究从影像学、组织学和生物力学方面对人工虎骨粉促骨折愈合作用进行验证。研究结果证实人工虎骨粉除对大鼠骨折愈合有促进作用,同时对正常骨也具有健骨作用,能够有效提高正常骨的力学性能。但其促进骨折愈合的作用机理仍不是十分明确,需要从细胞、分子水平实验来进一步研究和探讨。

致谢 感谢西安金花企业(集团)股份有限公司西安金花制药厂为本实验研究提供人工虎骨粉材料。

【参考文献】

- [1] Xia Yingpeng, Wan Jun, Li Huinan, et al. The effect of adjunctive therapy with Jin Tiange capsules for the treatment of lumbar posterolateral fusion. Chinese Journal of osteoporosis, 2010,16(11):842-844.
- [2] Ye L, Mason MD, Jiang WG. Bone morphogenetic protein and bone metastasis, implication and therapeutic potential. Front Biosci, 2011,1(16):865-897.
- [3] Vladimirov BS, Dimitrov SA. Growth factors-importance and possibilities for enhancement of the healing process in bone fractures. Folia Med, 2004,46(2):11-17.
- [4] Schmidmaier G, Wildemann B, Ostapowicz D. et al. Long-term effects of local growth factor (IGF-I and TGF-beta 1) treatment on fracture healing. A safety study for using growth factors. J Orthop Res, 2004,22(3):514-519.
- [5] Graham S, Leonidou A, Lester M, et al. Investigating the role of PDGF as a potential drug therapy in bone formation and fracture healing. Expert Opin Investig Drugs, 2009,18(11):1633-1654.
- [6] Higgins TF, Johnson BD. Effect of exogenous IGF-1 on chondrocyte apoptosis in a rabbit intraarticular osteotomy model. J Orthop Res, 2010,28(1):125-130.
- [7] Fritton JC, Emerton KB, Sun H, et al. Growth hormone protects against ovariectomy-induced bone loss in states of low circulating insulin-like growth factor (IGF-1). J Bone Miner Res, 2010, 25(2):235-246.
- [8] Kawaguchi H. Bone fracture and the healing mechanisms. Fibroblast growth factor-2 and fracture healing. Clin Calcium, 2009,19(5):653-659.
- [9] Grills BL, Schuijers JA. Immunohistochemical localization of nerve growth factor in fractured and unfractured rat bone. Acta Orthop Scand, 1998,69(4):415-419.

(下转第 616 页)

节炎应该注意以下要点:①应尽量减少关节的负重和大幅度活动,以延缓病变的进程;②肥胖的人,应减轻体重,减少关节的负荷;③下肢关节有病变时,可用拐杖或手杖,以减轻关节负担;④发作期应遵医嘱服用消炎镇痛药,尽量饭后服用,关节局部可采用湿热敷;⑤病变的关节应用护套保护;⑥注意天气变化,避免潮湿受冷。而有规律的较小运动习惯则是应该被提倡的运动方式。

【参 考 文 献】

- [1] 王晓滨,黄公怡,薛庆云. 硫酸氨基葡萄糖对白细胞介素 1 β 诱导人骨关节炎软骨细胞合成前列腺素 E₂ 的影响. 中华老年医学杂志, 2007, 26(1): 21-25.
 - [2] Hunter DJ, Felson DT. Osteoarthritis. BMJ, 2006, 332(7542): 639-642.
 - [3] Zhonghua Yixuehui Fengshibingxue Fenhui. Zhonghua Fenashibingxue Zazhi, 2003, 11(7): 702-704.
 - [4] 吕征,陶松年,刘沛. 关节镜手术治疗老年人膝关节骨性关节炎 82 例分析. 中华老年医学杂志, 2002, 21(4): 290.
 - [5] Sarzi-Puttini P, Cimmino MA, Scarpa R, et al. Osteoarthritis: an overview of the disease and its treatment strategies. Semin Arthritis Rheum, 2005, 35(1): 1.
 - [6] 荣杰生,陶天遵,陶树清,等. 高寒地区城市汉族人群膝关节关节炎情况调查. 中国骨质疏松杂志, 2007, 13(10): 723-726.
 - [7] Stitik TP, Foye PM. The prevalence of knee pain and symptomatic knee osteoarthritis among veteran traumatic amputees and nonamputees. Arch Phys Med Rehabil, 2005, 86(6): 1273.
- (收稿日期: 2010-09-15)
-
- (上接第 608 页)
- [10] Zhou Qiuli Guo Yingjie Wang Yan et al. Therapeutic effect of pilose antler polypeptides (PAP) on experimental fracture and its mechanism. Journal of Norman Bethune University of Medical Sciences, 1999, 5(25): 586-590.
 - [11] 崔永锋,吕光荣,王琦. 杜仲对兔骨折端骨密度影响的实验研究. 云南中医学院学报, 2002, 9: 16-19.
 - [12] 刘钟华,杨世荣,回春. 中药促进骨折愈合的实验研究概况. 长春中医学院学报, 2004, 6: 63-65.
 - [13] 汪学红,石大玲,何学斌,等. 密骨方对去卵巢大鼠骨折的影响. 中华实验外科杂志, 2008, 25(11): 1507-1508.
 - [14] Liu Guohua, Wang Zhiyi, Liu Danping. Effect of Diechuang San on the experimental fracture healing in rabbits Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2010, 24: 4454-4457.
 - [15] Gui Li, Shen Hao. Application of Xianlinggubao in bone and arthrosis disease. Chin J New Drugs Clin Rem, 2007, 8: 619-622.
 - [16] 刘国辉,陈东,杨述华,等. 强骨胶囊治疗骨质疏松性股骨转子间骨折的临床观察. 中西医结合研究, 2010, 2: 4-6.
 - [17] Huang Zhirong, Sheng Ganxin. Clinical observation of the Jingtange capsule treatment in 248 elderly arthralgia patients. Chinese Journal of Osteoporosis, 2010, 16(10): 761-762.
 - [18] Sun Jun, Wu Linsheng, Sun Shuchun, et al. Clinical study Oil effect of Jintiang capsules for treatment of primary osteoporosis. Chinese Journal of Osteoporosis, 2005, 11(11): 490-495.
 - [19] Wu Guanbao, Xu Wuji, Yang Bin, et al. Effect of Jintiang capsule on bone healing in osteoporotic fracture of surgical neck of the humerus. Chinese Journal of Osteoporosis, 2011, 17(1): 64-66.
- (收稿日期: 2011-02-09)

人工虎骨粉对大鼠骨折愈合的影响

作者：[寇玉辉](#)，[王天兵](#)，[邓磊](#)，[王艳华](#)，[韩娜](#)，[殷晓峰](#)，[张培训](#)，[张宏波](#)，[张殿英](#)，[姜保国](#)

作者单位：[北京大学人民医院创伤骨科，北京，100044](#)

刊名：[中国骨质疏松杂志](#) 

英文刊名：[Chinese Journal of Osteoporosis](#)

年，卷(期)：2011, 17 (7)

本文链接：http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201107013.aspx