

## 改良的小牛冻干骨松质支架的数控圆雕加工技术及生物力学有限元分析

王毅<sup>1,2</sup>, 吴东<sup>1,2,3</sup>, 王君<sup>4</sup>, 王素芳<sup>4</sup>, 郇勇<sup>4</sup>, 柴伟<sup>2</sup>

<sup>1</sup>解放军医学院, 北京 100853; <sup>2</sup>解放军总医院第一医学中心 骨科, 北京 100853; <sup>3</sup>解放军联勤保障部队郑州联勤保障中心, 河南郑州 450000; <sup>4</sup>中国科学院力学所, 北京 100190

**摘要:**目的 通过改良小牛骨松质加工技术解决小尺度小牛冻干骨松质数控圆雕碎裂不成形问题, 并在仿体水平结合生物力学有限元分析探讨其作为股骨头替代支架的可能性。方法 基于 Micro CT 数据, 比较小牛冻干骨松质和天然 SD 大鼠股骨头的骨密度(bone mineral density, BMD)、骨小梁厚度(trabecular thickness, TTH)、骨小梁分离度(trabecular separation, TrSt)、骨体积比(bone surface/bone volume, BS/BV)及骨体积分数(bone volume fraction, BV/TV)。通过单轴压缩实验测试新鲜小牛骨松质与小牛冻干骨松质试样屈服应力(yield stress, YS)和弹性模量(Young's module, YD)。分割重建大鼠股骨头 Micro CT 并设计股骨头支架模型及雕刻刀路。数控机床对小牛骨松质进行圆雕加工后去细胞和冻干。仿体手术植入后使用有限元分析评价股骨头支架匹配程度及股骨头骨支架与 SD 大鼠股骨头负重区的最大应力与位移。结果 小牛冻干骨松质股骨头骨支架 BMD、TTH、TrSt、BS/BV 及 BV/TV 均高于 SD 大鼠股骨头 ( $P < 0.05$ ); 小牛冻干骨松质屈服应力及其弹性模量均低于小牛骨松质 ( $P=0.046$ ,  $P=0.043$ ); 股骨头骨支架加工误差精度小于  $100 \mu\text{m}$  ( $P=0.000$ ); SD 大鼠股骨头与股骨头骨支架的 Von mises 最大应力无统计学差异 ( $P=0.120$ ); 股骨头骨支架的最大应变大于 SD 大鼠股骨头 ( $P=0.000$ )。结论 改良小牛冻干骨松质的加工技术使得小尺度股骨头骨支架加工成为可能, 且股骨头骨支架在原位植入 SD 大鼠后可能需要限制负重。

**关键词:** 小牛冻干骨松质; 改良加工技术; 四轴圆雕; 有限元分析

中图分类号: R 318.08 文献标志码: A 文章编号: 2095-5227(2019)05-0454-06 DOI: 10.3969/j.issn.2095-5227.2019.05.012

网络出版时间: 2019-05-27 09:25 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/10.1117.R.20190527.0925.002.html>

引用本文: 王毅, 吴东, 王君, 等. 改良的小牛冻干骨松质支架的数控圆雕加工技术及生物力学有限元分析 [J]. 解放军医学院学报, 2019, 40(5): 454-459.

## Modified computed numerical control engraving technology and biomechanical finite element analysis for calf freeze-dried cancellous bone scaffold

WANG Yi<sup>1,2</sup>, WU Dong<sup>1,2,3</sup>, WANG Jun<sup>4</sup>, WANG Sufang<sup>4</sup>, HUAN Yong<sup>4</sup>, CHAI Wei<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Chinese PLA Medical School, Beijing 100853, China; <sup>2</sup>Department of Orthopedics, the First Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China; <sup>3</sup>Zhengzhou Joint Logistic Support Center of Joint Logistic Support Force of Chinese People's Liberation Army, Zhengzhou 450000, Henan Province, China; <sup>4</sup>Institute of Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China

Corresponding author: CHAI Wei. Email: [chaiwei301@163.com](mailto:chaiwei301@163.com); HUAN Yong. Email: [huany@lnm.imech.ac.cn](mailto:huany@lnm.imech.ac.cn)

**Abstract:** Objective To solve the problem of fracturing and deforming in the small scale calf freeze-dried cancellous bone via computed numerical control (CNC) by improving the processing technology, and investigate the possibility of the engraved scaffold as a substitute scaffold for femoral head by the biomechanical finite element analysis at the simulation level. Methods Based on micro CT data, bone mineral density (BMD), trabecular thickness (TTH), trabecular separation (TrSt), bone surface/bone volume (BS/BV) and bone volume fraction (BV/TV) were compared between calf freeze-dried cancellous bone and natural SD rat femoral head. Through the uniaxial compression test, we achieved the yield stress (YS) and Young's module (YM) of the calf cancellous bone and calf freeze-dried cancellous bone. The micro CT data of the rat femoral heads were segmented and reconstructed as a model, based on which the femoral head bone scaffold model and a carving knife path were designed. The calf cancellous bone was processed by CNC machine and then was decellular and freeze-dried. Finite element analysis was used to evaluate the matching degree between the femoral head bone scaffold and the acetabulum, and the maximum stress and maximum displacement. Results BMD, TTH, TrSt, BS/BV and BV/TV of femoral head bone scaffolds were all significantly higher than those of SD rat femoral head (all  $P < 0.05$ ). The YS and YM of calf freeze-dried cancellous bone were lower than those of calf cancellous bone ( $P=0.046$  and  $P=0.043$ ); The machining error of femoral head bone scaffold was less than  $100 \mu\text{m}$  ( $P=0.000$ ); There was no difference in von mises

收稿日期: 2019-01-16

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81772320; 51575514)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81772320; 51575514)

作者简介: 王毅, 男, 学士, 主治医师。研究方向: 干细胞组织工程材料。Email: [wangyi999888@163.com](mailto:wangyi999888@163.com); 吴东, 男, 学士, 医师。研究方向: 骨关节大数据医疗。Email: [aaleii@foxmail.com](mailto:aaleii@foxmail.com)

通信作者: 柴伟, 男, 博士, 副主任医师, 硕士生导师。Email: [chaiwei301@163.com](mailto:chaiwei301@163.com); 郇勇, 男, 博士, 研究员, 硕士生导师。Email: [huany@lnm.imech.ac.cn](mailto:huany@lnm.imech.ac.cn)

maximum stress between femoral head of SD rats and femoral head bone scaffold ( $P=0.120$ ); The maximum strain of the femoral head bone scaffold was greater than that of the femoral head of SD rats ( $P=0.000$ ). Conclusion The modified processing technology makes it possible to process calf freeze-dried cancellous bone as small-scale femoral head bone scaffold, and the femoral head bone scaffold may require the limit of loading after implantation into SD rats.

Keywords: calf freeze-dried cancellous bone; improved processing technology; four-axis rotary carving; finite element analysis  
Cited as: Wang Y, Wu D, Wang J, et al. Modified computed numerical control engraving technology and biomechanical finite element analysis for calf freeze-dried cancellous bone scaffold [J]. Acad J Chin PLA Med Sch, 2019, 40 (5) : 454-459.

股骨头坏死是一种常见的致残性疾病,严重影响患者运动功能<sup>[1-2]</sup>。据报道,中国约有812万股骨头坏死病人<sup>[3]</sup>。如果未加有效干预,股骨头坏死将进展为关节面塌陷以及继发骨关节炎。目前晚期股骨头坏死治疗的金标准是人工髋关节置换<sup>[4]</sup>。然而,人工髋关节的寿命有限,对年轻的股骨头坏死患者而言,接受人工髋关节置换术未来将面对人工髋关节翻修。多项关于股骨头再生的研究旨在开发生物力学能够满足支撑强度要求且具备生物可替代性能的支架<sup>[5-8]</sup>。自体骨可诱导新骨形成且具备良好的生物力学性能及免疫相容性<sup>[9-10]</sup>。因而自体骨移植是早期股骨头坏死患者保髋治疗的一种手段<sup>[11]</sup>。然而,自体骨量有限,并且难以雕刻成精确的解剖结构。理想的情况下,用于移植的自体骨形态应与股骨头初始解剖结构一致<sup>[12]</sup>。与自体骨相媲美的异种冻干骨在治疗骨缺损上展现出类似天然人骨组织特性、良好的组织相容性与优越的可替代能力<sup>[13-14]</sup>。美国FDA批准小牛冻干骨松质(Geistlich Bio-Oss、CANCELLO-PURE®和BIOFOAM™ wedges)作为异种骨的代表在临床治疗骨缺损中使用。据报道,小牛冻干骨松质在关节再生中的预临床实验中展现出可再生负重关节的能力<sup>[15]</sup>。因此,股骨头解剖形貌化的小牛冻干骨松质可能为再生股骨头提供新策略。啮齿类动物的股骨头坏死模型在股骨头坏死的再生治疗预临床研究中被广泛使用,其股骨头空间尺度小于10 mm<sup>[16-18]</sup>。小于10 mm空间尺度的小牛冻干骨松质圆雕加工时会碎裂,并且此尺度的骨松质支架是否具备能与天然啮齿类动物股骨头类似支撑能力尚未有报道。因此,本研究从材料力学方面分析碎裂原因,并据此改良小牛冻干骨松质数控雕刻技术,在高精度水平加工出一种具备股骨头解剖形貌的小牛冻干骨松质支架(下文简称为股骨头骨支架),并通过生物力学有限元分析评估其与正常SD大鼠股骨头的力学支撑能力的差异,为未来股骨头再生治疗的研究提供依据。

## 材料和方法

### 1 实验动物及试剂 12周龄SD雄性大鼠3只,

体质量(275.43±10.36)g(购于解放军医学院实验动物中心)。小牛新鲜腿骨(义华生鲜,中国南京);聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)(伊诺凯,中国北京);三羟甲基氨基甲烷缓冲液(TRIS溶液)(Amresco,美国);乙二胺四乙酸(EDTA)(伊诺凯,中国北京);十二烷基硫酸钠(SDS)(伊诺凯,中国北京);DNA酶(Aladdin,中国上海);RNA酶(Aladdin,中国上海);PBS缓冲液(Hyclone,美国);胶原(Mp,美国)。

2 Micro CT扫描与骨密度分析 本研究经解放军总医院动物伦理委员会批准。每只SD大鼠3%戊巴比妥钠麻醉安乐处死后分别进行骨盆及股骨Micro CT(PerkinElmer,美国)扫描<sup>[10]</sup>。扫描模式:球管电压90 kV,电流88 μA,曝光时间40 ms,视野72 mm×45 mm,各向同性体素分辨率90 μm。将每组数据导出为DICOM格式。股骨头骨支架依据上述参数扫描。CT值与羟基磷灰石密度( $\rho$ )经标准品校正后( $\rho=0.149852167\times CT+232.7502174$ ),使用Analyze 12.0进行骨矿物质分析。骨密度分析中,骨皮质、骨松质、骨小梁厚度、骨小梁分离度由于变异度大,均采用每个样品冠状面每100 μm间隔连续选取32个面,样本量n=96;骨表面积骨体积比与骨体积分数变异度小,样本量n=3。

3 股骨头骨支架的设计与加工 将Micro CT数据导入Mimics 19.0 Research,阈值分割后进行股骨侧区域生长,重建SD大鼠完整股骨。Measurements工具测量股骨头直径、股骨颈直径及旋转中心沿股骨颈中轴至大转子骨皮质内1 mm的距离。在AutoCAD 2019软件中设计股骨头骨支架模型,保存为STL文件后导入ArtCAM Pro 2019软件,设计四轴圆雕刀路文件保存为tap格式。摆锯切割小牛转子间骨松质,并使用环钻(内径 $\varphi$ 7.4 mm,深度30 mm)取骨柱坯料。将坯料安放于小型CNC雕刻机(无锡二泉,中国)A轴,夹具调平后锁紧,调零后将tap文件导入MACH3并启动。圆雕后4 mm喇叭钻手动去支撑。

4 股骨头骨支架去细胞 根据先前的研究方法<sup>[15]</sup>:将支架置于0.1%(w/v) Triton溶液中在超声清洗机37°C进行细胞裂解24 h;加入含0.1% EDTA(w/v)

PBS 室温下 1 h; 在低渗的缓冲液中 (10 mmol/L Tris, 0.1% EDTA(w/v)) 4°C 过夜; 去污剂 [10 mmol/L Tris, 0.5% SDS(w/v)] 室温 24 h; SDS 处理后 PBS 洗涤 10 次, 洗涤至 PBS 无泡沫; 放入细胞培养箱, 37°C 酶解 6 h (50 U/ml DNase, 核糖核酸酶 1 U/ml, 10 mmol/L Tris)。最后将股骨头骨支架放入冻干机冻干。

5 股骨头骨支架植入仿体手术 将大鼠股骨与具有完整髌臼的部分骨盆完整取出, 于股骨头下约 1 mm 使用砂轮截断股骨颈。调整  $\varphi=0.7$  mm 麻花钻与夹头之间长度为 18 mm, 于股骨颈断端沿中心线小心扩髓。分别使用  $\varphi=1$  mm、 $\varphi=1.5$  mm 与  $\varphi=2$  mm 尖形磨钻沿骨道扩髓, 最后用  $\varphi=2.3$  mm 梯形磨钻扩髓至距离大粗隆骨皮质外表面约 2 mm 处。取出磨钻, 插入解剖型骨松质支架, 并与髌臼进行匹配测试。

6 单轴压缩实验 按照方法 3 中的步骤取小牛骨松质试样 (直径  $\varphi=7$  mm, 长  $l=24$  mm,  $n=6$ ), 其中 3 个试样依据步骤 4 进行去细胞后冻干。测试前每个试样使用 70% 乙醇处理 1 h, 去离子水浸泡 1 h 水化后进行力学测试。使用 MTS810 (Material Test System, 美国) 液压伺服材料试验机对小牛骨松质试样 (组 1,  $n=3$ ) 及小牛冻干骨松质试样 (组 2,  $n=3$ ) 进行单轴压缩实验, 加载恒定速率 1 mm/min, 直至试样纵向出现断裂。

7 有限元分析 使用 Mimics 19.0 Research 对 SD 大鼠股骨头与股骨头骨支架 Micro CT 数据进行建模。两模型匹配后进行布尔减法运算产生厚度差异模型后导入 3-matic 进行厚度有限元分析。使用上述方法对髌臼和股骨头骨支架模型间隙进行厚度有限元分析。采用 ABAQUS 6.13 有限元网格划分, 赋值 (密度按方法 2、杨氏模量  $E=-6\ 034.6+23.4 \times \rho$  和泊松比 0.03)<sup>[19]</sup>, 100 N 应力沿股骨颈力线加载。

8 数据统计 使用 SPSS19.0 软件进行统计学分析, 统计图使用 Origin 2018 进行绘制, 计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。单组比较采取设置检验值后进行单样本  $t$  检验, 两组比较采用两个独立样本  $t$  检验进行分析, 检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 结 果

1 股骨头骨支架与 SD 大鼠股骨头骨密度比较 股骨头骨支架骨密度 (bone mineral density, BMD) 高于 SD 大鼠股骨头骨皮质与骨松质密度 ( $P=0.000$ ); 股骨头骨支架骨小梁厚度 (trabecular thickness,

TTH) 高于 SD 大鼠股骨头骨小梁厚度 ( $P=0.000$ ); 股骨头骨支架骨小梁分离度 (trabecular separation, TrSt) 高于 SD 大鼠股骨头骨小梁分离度 ( $P=0.000$ ); 股骨头骨支架骨表面积骨体积比 (bone surface/bone volume, BS/BV) 高于 SD 大鼠股骨头骨表面积骨体积比 ( $P=0.001$ ); 股骨头骨支架骨体积分数 (bone volume fraction, BV/TV) 高于 SD 大鼠股骨头骨体积分数 ( $P=0.000$ )。见表 1。

表 1 股骨头骨支架与 SD 大鼠股骨头骨矿物质比较  
Tab. 1 Bone mineral analysis in femoral head of bone scaffold and SD rats

| Variable                               | SD rat femoral head | Femoral head bone scaffold | $t$    | $P$   |
|--|---------------------|----------------------------|--------|-------|
| Cortex BMD (mgHA/cm <sup>3</sup> )     | 1 075.39±173.611    | 448.43±154.6015            | 7.23   | 0.000 |
| Trabecular BMD (mgHA/cm <sup>3</sup> ) | 718.52±61.93        | 448.43±154.6042            | 2.942  | 0.000 |
| TTH ( $\mu$ m)                         | 263.25±33.42        | 318.41±52.76               | 5.534  | 0.005 |
| TrSt ( $\mu$ m)                        | 176.735±11.84       | 257.07±51.40               | 14.924 | 0.000 |
| BS/BV (/mm)                            | 7.10±0.25           | 8.71±0.16                  | 9.185  | 0.001 |
| BV/TV (%)                              | 67.91±3.88          | 99.88±0.17                 | 14.275 | 0.000 |

2 加工精度与解剖型冻干骨匹配情况 设计头尺寸为 4 000  $\mu$ m, 与大鼠股骨头厚度差中位数 19.87(0.01, 90.72)  $\mu$ m (图 1A)。实际加工误差 (71.54±15.80)  $\mu$ m 精度小于 100  $\mu$ m ( $P=0.000$ )。头臼匹配情况良好, 间隙厚度中位数 239.57(94.31, 333.36)  $\mu$ m (图 1B)。仿体手术中股骨头骨支架植入后, 股骨侧显示近端远端良好压配 (图 1C), 股骨头支架与 SD 大鼠天然股骨头具有近乎一致的解剖结构 (图 1E)。重建的髌臼与股骨头骨支架之间关节间隙均匀, 匹配度高。股骨头骨截除股骨头 (图 1F) 后植入股骨头骨支架, 髌臼与股骨头骨支架之间关节间隙均匀 (图 1D), 旋转髌臼侧多角度提示匹配良好 (图 1G 和图 1H)。

3 单轴压缩试验 新鲜小牛骨松质试样屈服应力 (16.37±2.96) MPa (图 2A); 小牛冻干骨松质试样屈服应力 (10.06±2.43) MPa (图 2D); 小牛冻干骨松质屈服应力较新鲜小牛骨松质屈服应力低 ( $P=0.046$ ) (图 2B)。小牛骨松质试样弹性模量 (1 104.40±181.29) MPa, 小牛冻干骨松质试样弹性模量 (708.27±149.92) MPa。小牛冻干骨松质弹性模量较新鲜小牛骨松质弹性模量低 ( $P=0.043$ ) (图 2E)。试样压缩屈服后小牛骨试样呈现堆积压缩现象 (图 2C), 而小牛冻干骨松质呈现约 45° 的断口 (图 2F), 提示冻干后小牛骨松质脆性增加。

4 有限元应力分析 仿体有限元分析结果显示: SD 大鼠股骨头的 Von mises 应力云图最大应力

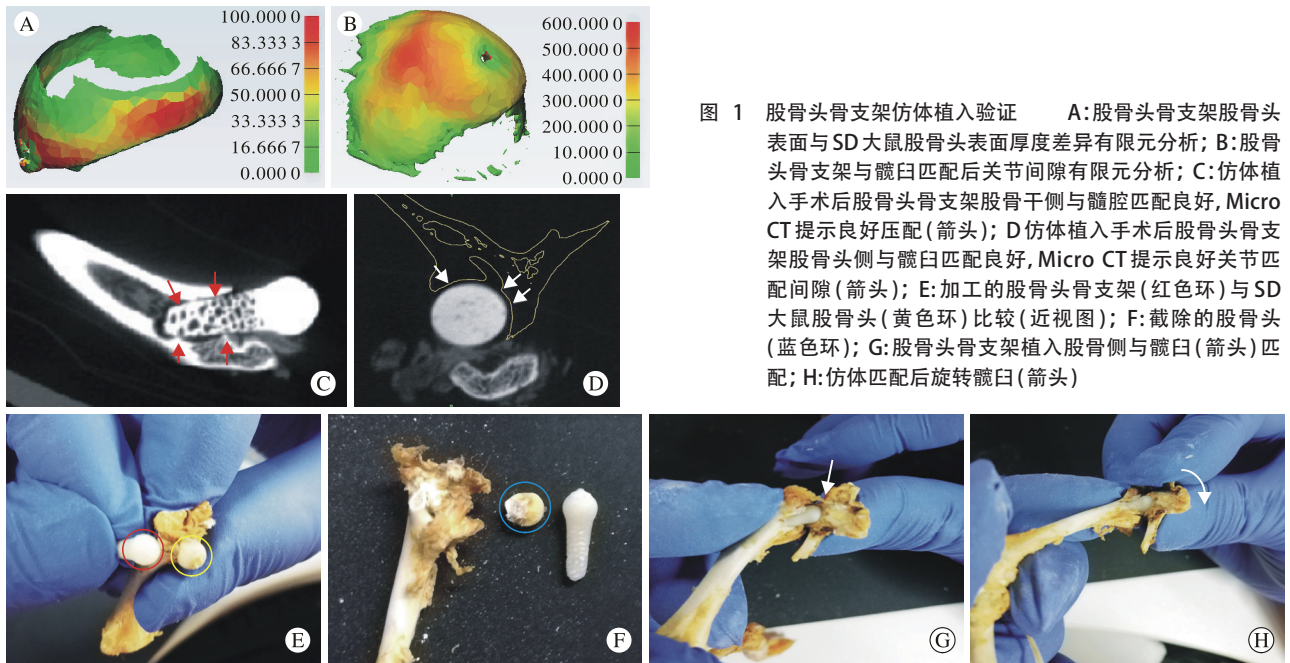


图 1 股骨头骨支架仿体植入验证 A: 股骨头骨支架股骨头表面与SD大鼠股骨头表面厚度差异有限元分析; B: 股骨头骨支架与髋臼匹配后关节间隙有限元分析; C: 仿体植入手术后股骨头骨支架股骨干侧与髓腔匹配良好, Micro CT提示良好压配(箭头); D: 仿体植入手术后股骨头骨支架股骨头侧与髋臼匹配良好, Micro CT提示良好关节匹配间隙(箭头); E: 加工的股骨头骨支架(红色环)与SD大鼠股骨头(黄色环)比较(近视图); F: 截除的股骨头(蓝色环); G: 股骨头骨支架植入股骨侧与髋臼(箭头)匹配; H: 仿体匹配后旋转髋臼(箭头)

Fig.1 Verification of femoral head bone scaffold imitation implantation A, Finite element analysis of the thickness difference between the femoral head surface of femoral head bone scaffold and that of SD rats. B, Finite element analysis of joint space after femoral head bone scaffold and acetabulum matching. C, The shaft side of femoral bone scaffold was well matched with the medullary cavity after the operation of phantom implant, and Micro CT indicated good compression (arrow). D, The head side of femoral head bone scaffold was well matched with the acetabulum after the operation of imitation implantation, and Micro CT indicated a good joint matching gap (arrow). E, Close view of the femoral head bone scaffold (red ring) and the femoral head (yellow ring) of SD rats. F, The dissected femoral head (blue ring). G, The femoral head bone scaffold was implanted into the femoral side and matched the acetabulum (arrow). H, The rotation of acetabulum after simulation experiment (arrow)

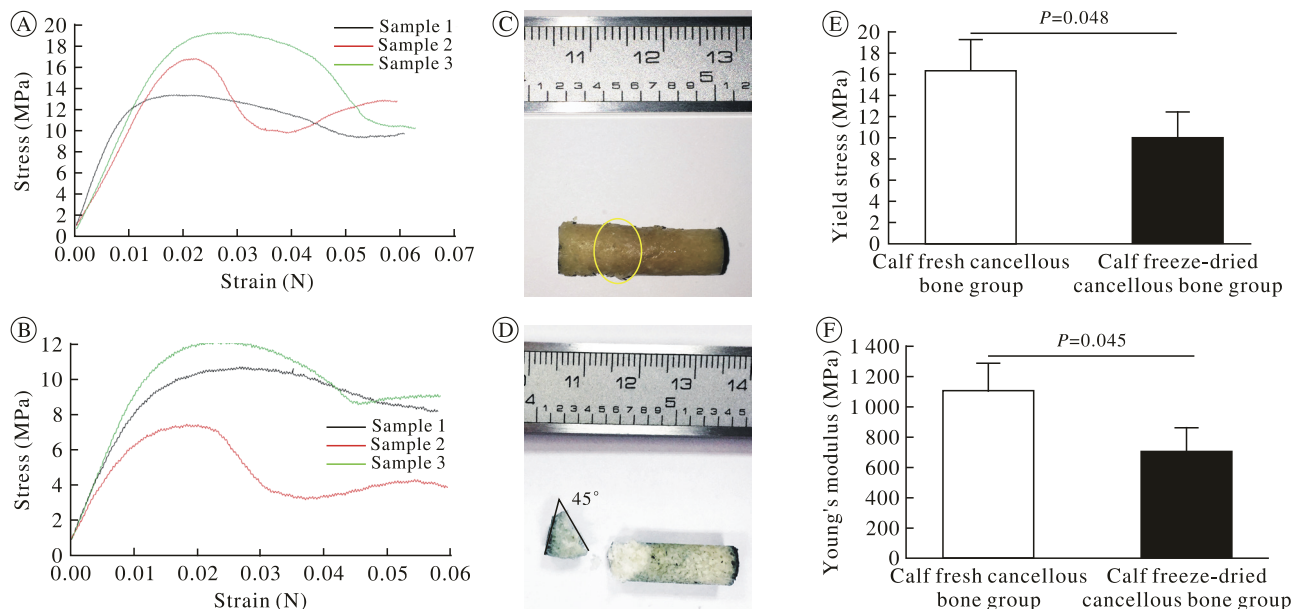


图 2 小牛新鲜骨松质与冻干骨松质单轴压缩实验结果 A, B: 单轴压缩实验的应力(Y轴)-应变(X轴)曲线(A: 小牛骨松质试样; B: 小牛冻干骨松质试样); C: 塑性好的小牛骨松质试样压缩后呈现堆积压缩(黄色环); D: 脆性大的小牛冻干骨松质压缩后呈现约45°的断口(折线); E: 小牛骨松质试样屈服应力大于小牛冻干骨松质试样; F: 小牛骨松质试样弹性模量大于小牛冻干骨松质试样

Fig.2 Uniaxial compression testing results A-B, Stress (Y-axis) and strain (X-axis) curves of uniaxial compression experiment (A, calf cancellous bone sample; B, sample of freeze-dried cancellous bone from calf); C: the cancellous bone sample with good plasticity in calf shows accumulation compression (yellow ring) after compression; D: The brittle calf freeze-dried cancellous bone presents a fracture with the fracture line obliquity at approximately a 45 degree angle after compression (line); E, Yield stress of calf cancellous bone sample is greater than that of calf freeze-dried cancellous bone sample, and the difference is statistically significant ( $^*P < 0.05$ ); F, The elastic modulus of calf cancellous bone sample is greater than that of calf freeze-dried cancellous bone sample ( $^*P < 0.05$ )

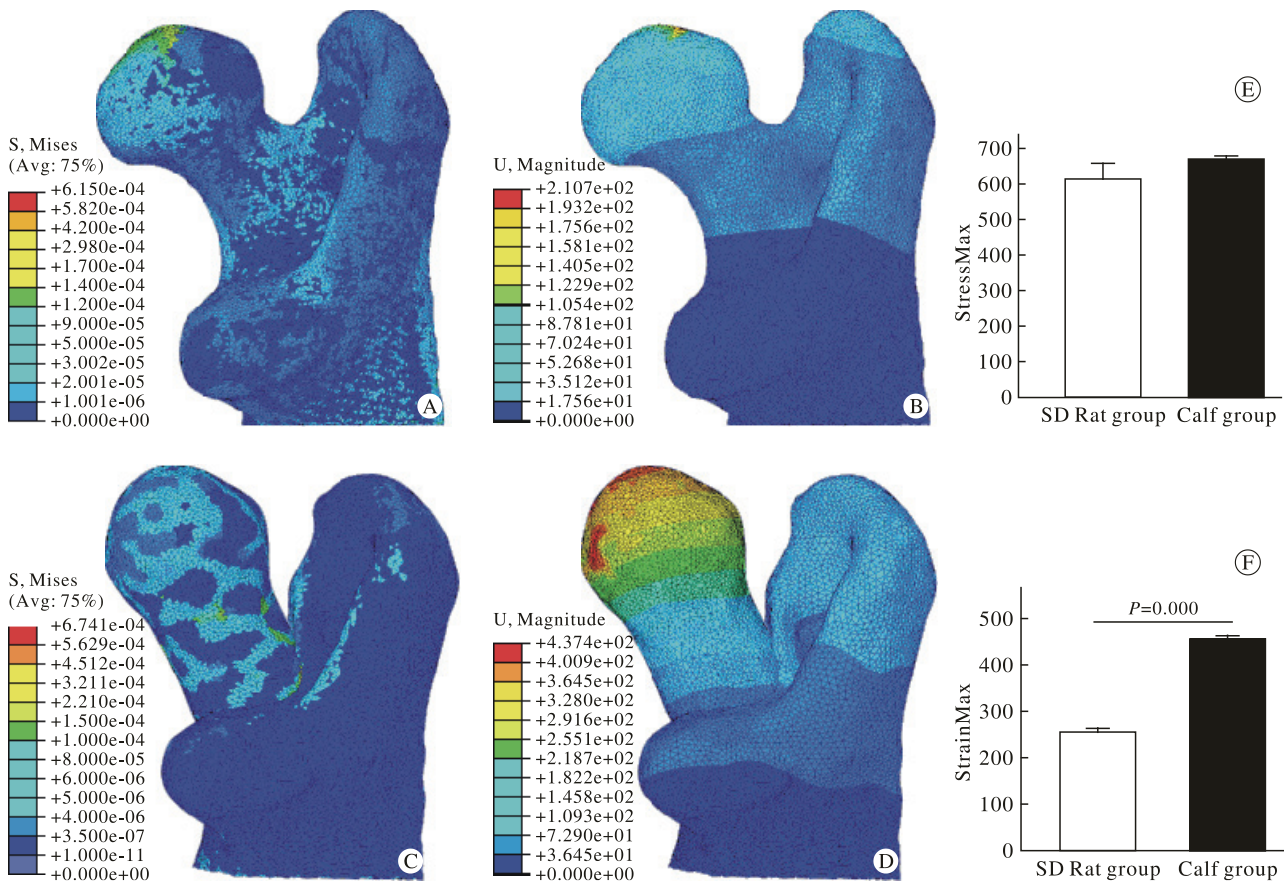


图 3 应力应变有限元分析: A:SD 大鼠股骨头的 von mises 应力云图, 最大应力 614.2 MPa; B:SD 大鼠股骨头的位移云图, 最大位移为 259.2  $\mu\text{m}$ ; C:植入的股骨头骨支架的 von mises 应力云图, 最大应力 674.1 MPa; D:植入的股骨头骨支架的位移云图, 最大位移为 437.4  $\mu\text{m}$ ; E:最大应力两组比较无统计学差异; F:最大应变股骨头骨支架高于 SD 大鼠股骨头

Fig.3 Finite element analysis in stress and strain. The cloud diagram shows the femoral head of SD rat with the maximum von mises stress of 614.2MPa (A) and the maximum displacement of 259.2  $\mu\text{m}$  (B), and the implanted femoral head bone scaffold with maximum von mises stress of 674.1MPa (C) and the maximum displacement of 437.4  $\mu\text{m}$  (D); there is no statistical difference between the two groups in the maximum stress section (E); the maximum strain of the femoral head bone scaffold is higher than that of SD rats (F)

(615.16 $\pm$ 48.07) MPa(图 3A), 植入的股骨头骨支架的 Von mises 最大应力 (671.583 2 $\pm$ 12.21) MPa (图 3C), 两组间差异无统计学意义 ( $P=0.120$ )(图 3E); SD 大鼠股骨头最大位移为 (257.29 $\pm$ 6.42)  $\mu\text{m}$  (图 3B), 植入的股骨头骨支架最大位移为 (458.41 $\pm$ 7.33)  $\mu\text{m}$ (图 3D), 股骨头骨支架的最大应变大于 SD 大鼠股骨头 ( $P=0.000$ )(图 3F)。

### 讨论

全球范围内对可替代股骨头生物材料有着极大的需求。手术需要的材料不仅要有足够的力学性质, 还需要便于手术使用, 并且能够在低成本的情况下满足大规模生产<sup>[20]</sup>。小牛冻干骨来源广泛且价格低廉, 且其在负重关节再生的预临床研究中取得了进展。Bhumiratana 等<sup>[15]</sup>在研究用于颞下颌关节重建的富干细胞的小牛冻干骨松质时, 未使用骨形态发生蛋白, 而是单纯通过诱导培养基于流体生物反应器中进行骨诱导, 待其成骨基

因表达高时, 进行移植手术。他们成功修复了尤卡坦小型猪颞下颌关节缺损, 并且在关节移行处有软骨关节面的生长。他们的研究所涉及的解剖型骨松质是大于 10 mm 的大尺度支架, 加工时未出现小尺度骨松质碎裂问题。

本研究以啮齿类动物股骨头为模型, 进行股骨头骨支架数控精雕时出现了碎裂。我们通过力学测试, 分析加工时断裂是由于小牛骨松质经冻干后脆性增加, 弹性模量和屈服应力下降所致。为此, 我们改良了小牛冻干骨松质数字控制加工技术, 采用先加工后去细胞冻干的技术手段, 成功的将小牛冻干骨松质在小尺度下加工成型。据我们所知, 尚未有本研究中骨松质加工尺度的相关的研究报道。

我们通过对小牛冻干骨松质与 SD 大鼠天然股骨头进行 Micro CT 扫描和骨矿物质分析, 发现小牛冻干骨松质的骨小梁密度厚度均高于 SD 大鼠股骨头, 甚至高于其骨皮质密度。以上结果提示股

骨头骨支架的力学性质可能优于 SD 大鼠股骨头。我们使用仿体手术证实了 SD 大鼠股骨头替代的可行性。厚度有限元分析证实了植入后的股骨头骨支架具备良好的髋臼匹配度、股骨侧压配、良好的关节面曲率及高加工精度(误差小于  $100\mu\text{m}$ )。然而,有限元分析结果表明股骨头骨支架在仿体植入后的最大应力位移大于 SD 大鼠天然股骨头,提示股骨头骨支架的支撑能力略差于 SD 大鼠天然股骨头。这可能是股骨头骨支架的骨小梁间隙高于 SD 大鼠股骨头所导致,预示 SD 大鼠活体原位植入股骨头骨支架可能需要在术后限制 SD 大鼠负重。

本研究亦有一些局限性。尽管股骨头骨支架具备重建骨与关节的支撑结构,但仍然不具备生物活性。研究报道,仅骨松质移植骨具有一定吸收率,并且仅植入冻干骨松质不会在关节处产生新的软骨关节面<sup>[14-15]</sup>。我们将在下阶段研究中将间充质干细胞植入支架内、进行诱导分化并在啮齿类动物活体水平探讨其再生股骨头性能。同时,我们未在有限元分析中分析其剪切力对股骨头骨支架造成的影响,但可通过外固定架外减少负重的同时限制剪切应力对股骨头骨支架稳定性的影响。

综上所述,本研究分析了小尺度小牛冻干骨松质数控雕刻碎裂的原因,并改良了小牛冻干骨松质的加工技术,使其在小尺度加工成型。生物力学有限元的方法结果显示其在原位植入啮齿类动物后可能需要限制负重。本研究为未来开展股骨头再生研究提供新的材料基础。

#### 参考文献

- 1 Yoon BH, Jones LC, Chen CH, et al. Etiologic Classification Criteria of ARCO on Femoral Head Osteonecrosis Part 1 : Glucocorticoid-Associated Osteonecrosis [J]. *J Arthroplasty*, 2019, 34 (1) : 163-168.
- 2 Yoon BH, Jones LC, Chen CH, et al. Etiologic Classification Criteria of ARCO on Femoral Head Osteonecrosis Part 2 : Alcohol-Associated Osteonecrosis [J]. *J Arthroplasty*, 2019, 34 (1) : 169-174.
- 3 Zhao DW, Yu M, Hu K, et al. Prevalence of Nontraumatic Osteonecrosis of the Femoral Head and its Associated Risk Factors in the Chinese Population : Results from a Nationally Representative Survey [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2015, 128 (21) : 2843-2850.
- 4 Schnurr C, Loucif A, Patzer T, et al. Short stem survival after osteonecrosis of the femoral head [J]. *Arch Orthop Trauma Surg*, 2018, 138 (4) : 573-579.
- 5 Qin L, Yao D, Zheng L, et al. Phytomolecule icaritin incorporated PLGA/TCP scaffold for steroid-associated osteonecrosis : Proof-of-concept for prevention of hip joint collapse in bipedal emus and mechanistic study in quadrupedal rabbits [J]. *Biomaterials*, 2015, 59 : 125-143.
- 6 Xie X, Pei F, Wang H, et al. Icaritin : A promising osteoinductive compound for repairing bone defect and osteonecrosis [J]. *J Biomater Appl*, 2015, 30 (3) : 290-299.
- 7 Bian W, Li D, Lian Q, et al. Design and fabrication of a novel porous implant with pre-set channels based on ceramic stereolithography for vascular implantation [J]. *Biofabrication*, 2011, 3 (3) : 034103.
- 8 吕玉明,程立明,裴国献,等.混合附载内皮细胞与成骨细胞的 nHA/RHLC/PLA 复合支架材料修复犬股骨头坏死的实验研究 [C] // 中华医学会第 10 届全国显微外科学术会议暨世界首例断肢再植成功 50 周年庆典论文集.中华医学会显微外科学分会, 2013.
- 9 Carlock KD, Hildebrandt KR, Konda SR, et al. Autogenous Iliac Crest Bone Grafting for the Treatment of Fracture Nonunion Is Equally Effective in Elderly and Nonelderly Patients [J/OL]. <http://dx.doi.org/10.5435/JAAOS-D-18-00322>.
- 10 Mau JL, Grodin E, Lin JJ, et al. A comparative, randomized, prospective, two-center clinical study to evaluate the clinical and esthetic outcomes of two different bone grafting techniques in early implant placement [J]. *J Periodontol*, 2019, 90 (3) : 247-255.
- 11 Cao L, Guo C, Chen J, et al. Free Vascularized Fibular Grafting Improves Vascularity Compared With Core Decompression in Femoral Head Osteonecrosis : A Randomized Clinical Trial [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2017, 475 (9) : 2230-2240.
- 12 张美玲,黄阳,路荣建,等.计算机辅助设计/制造可切削陶瓷材料的研究进展 [J].解放军医学院学报, 2018, 39 (2) : 172-174.
- 13 吕波,董文,刘武清.异种脱蛋白松质骨支架在脊柱横突间融合中应用的可行性 [J].中国组织工程研究, 2015, 19 (43) : 6946-6952.
- 14 张楚南,倪杰,莫嘉骥,等.美学区种植同期应用异种骨行引导骨再生术后愈合期间唇侧骨改建的临床研究 [J].中国口腔颌面外科杂志, 2018, 16 (1) : 29-33.
- 15 Bhumiratana S, Bernhard JC, Alfi DM, et al. Tissue-engineered autologous grafts for facial bone reconstruction [J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8 (343) : 343ra383.
- 16 Zhang Z, Li Z, Zhang C, et al. Biomimetic intrafibrillar mineralized collagen promotes bone regeneration via activation of the Wnt signaling pathway [J]. *Int J Nanomedicine*, 2018, 13 : 7503-7516.
- 17 Huang Z, Cheng C, Cao B, et al. Icaritin Protects against Glucocorticoid-Induced Osteonecrosis of the Femoral Head in Rats [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 47 (2) : 694-706.
- 18 Onwuama KT, Ojo SA, Hambolu JO, et al. Macro-anatomical and morphometric studies of the hindlimb of grasscutter (*Thryonomys swinderianus*, Temminck-1827) [J]. *Anat Histol Embryol*, 2018, 47 (1) : 21-27.
- 19 Solitro GF, Mainemare F, Amirouche F, et al. A novel technique with reduced computed tomography exposure to predict vertebral compression fracture : a finite element study based on rat vertebrae [J/OL]. <https://dx.doi.org/10.1007/s11517-018-1918-9>.
- 20 Jakus AE, Rutz AL, Jordan SW, et al. Hyperelastic "bone" : A highly versatile, growth factor-free, osteoregenerative, scalable, and surgically friendly biomaterial [J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8 (358) : 358ra127.